

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Урюпина Кристина Владимировна

**ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У ПАЦИЕНТОК ПОЗДНЕГО
РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Куценко Ирина Игоревна

Краснодар – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ, ДИАГНОСТИКЕ И ТАКТИКЕ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С БЕСПЛОДИЕМ В ПОЗДНЕМ РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	17
1.1 Распространение бесплодия в женской популяции.....	17
1.2 Причины женского бесплодия.....	20
1.3 Бесплодие, связанное с дисфункцией яичников	24
1.4 Анеуплоидия как причина бесплодия.....	29
1.5 Причины бесплодия, связанные с патологией матки и эндометрия.....	32
1.6 Процедуры ВРТ в лечении женского бесплодия.....	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	49
2.1 Дизайн исследования.....	49
2.2 Методы исследования.....	57
2.2.1 Клинико-лабораторные исследования.....	57
2.2.2 Исследование гормонального статуса и параметров овариального резерва.....	58
2.2.3 Оценка оксидантного статуса фолликулярной жидкости.....	59
2.2.4 Исследование цитокинового статуса и ростовых факторов цервикальной слизи.....	60
2.2.5 Инструментальные исследования.....	60
2.2.6 Гистологическое и иммуногистохимическое исследование эндометрия.....	61
2.2.7 Микробиологическое исследование.....	62
2.3 Статистическая обработка данных.....	62
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ РЕТРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	64
3.1 Клиническое и лабораторное исследование.....	64

3.2 Результаты лабораторно-инструментальных исследований.....	71
3.2.1 Лабораторная диагностика.....	72
3.3 Инструментальная диагностика	76
3.4 Результаты исследования пайпель-биопсии.....	78
3.5 Прегравидарная подготовка.....	80
3.6 Результаты фолликулогенеза и эмбриогенеза	81
3.7 Исходы ВРТ	89
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	98
4.1 Выделение «возможных» подгрупп пациенток из основной группы с помощью кластерного анализа	98
4.2 Анализ анамнестических данных	103
4.3 Результаты лабораторно-инструментальных исследований	106
4.3.1 Результаты лабораторных исследований в ходе предыдущего неудачного цикла ЭКО	106
4.3.2 Результаты инструментального исследования	112
4.3.3 Особенности стимуляции суперовуляции, фолликуло- и оогенеза у пациенток в исследуемых группах	114
4.3.4 Дополнительные результаты лабораторных исследований в объеме последующей прегравидарной подготовки	117
4.3.5 Дополнительные результаты инструментальных исследований в объеме последующей прегравидарной подготовки	126
4.3.6 Микробиологические исследования в объеме последующей прегравидарной подготовки	127
4.3.7 Иммуногистохимическое обследование пайпель-биоптатов эндометрия в объеме последующей прегравидарной подготовки.....	132
4.3.8 Параметры цитокинового баланса цервикальной слизи в объеме последующей прегравидарной подготовки	137
ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИНАМИКИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА ФОНЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ПРЕГРАВИДАРНОЙ ПОДГОТОВКИ	146

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	165
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	179
Выводы.....	179
Практические рекомендации.....	182
Перспективы дальнейшей разработки темы.....	184
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	185
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	187
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	221

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы научного исследования

Возможность осуществления планов деторождения среди женщин старше 35 лет является важнейшей задачей в области современных репродуктивных технологий. Изменившаяся репродуктивная стратегия последних десятилетий, перенос рождения потомства на более поздние сроки жизни и связанные с этим проблемы фертильности, привели к возникновению особой категории женщин, которые вынуждено используют вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) для рождения детей в позднем детородном периоде.

Активное проникновение в клиническую практику репродуктивных технологий новых методов: экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) / интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ), вспомогательный хэтчинг, предварительное культуральное ведение эмбрионов до этапа бластоцисты, отправление на криоконсервацию ооцитов и эмбрионов, определение генных и хромосомных мутаций, применение донорских ооцитов и мужского семенного материала) дало возможность получать живое здоровое потомство у пар, которые прежде терпели неудачи.

Такие современные технологии, как криоконсервация сперматозоидов и яйцеклеток, генная инженерия, активное применение при репродукции донорских половых клеток человека, благотворно повлияли на вероятность беременности и рождения детей у половых партнеров, которые ранее по различным причинам не могли стать родителями [66, 144].

Передовые технологии значительно повышают эффективность программ ВРТ. Данный факт подтверждается статистическими сведениями, предоставляемыми Российской Ассоциацией Репродукции Человека (РАРЧ) (2022): доля беременных женщин от общего числа попыток составляет 36,6%, если рассматривать возраст до 34 лет. Однако при переходе возрастной грани в 35 лет эффективность таких технологий резко снижается, составляя 28,2% в группе

женщин от 35 до 39 лет и 16,8% – у женщин старше 40 лет. Вероятность рождения живых детей женщинами в позднем репродуктивном возрасте составляет 20,9% в диапазоне 35-39 лет и 13,4% среди женщин >40 лет [18].

В основном наступление и нормальное течение беременности определяется двумя компонентами: высоким качеством эмбриона с нормальным набором хромосом и удовлетворительной рецептивностью эндометриального слоя матки [34]. В позднем репродуктивном периоде происходит постепенная утрата фолликулярного резерва, сопровождающаяся ослабленной реакцией на триггеры овуляции [17, 48]. Помимо этого, по мере старения, качество ооцитов заметно ухудшается, что приводит к уменьшению возможности их оплодотворения, а также к резкому падению качества эмбрионов [22]. Также результатом ухудшения качества эмбрионов считается увеличение вероятности репродуктивных потерь и рождение потомства с аномалиями развития [197]. В итоге коррекцию ооцитарного фактора у большинства пациенток позднего репродуктивного возраста приходится решать донацией яйцеклеток или ооцитов, что часто воспринимается пациентками весьма негативно [41]. Кроме того, одной из веских причин падения способности к зачатию в позднем репродуктивном возрасте служит снижение морфофункционального статуса эндометрия в связи с ослаблением функции яичников, с одной стороны, и структурными нарушениями в эндометрии вследствие перенесенных заболеваний – с другой. Воссоздание нормальной рецептивности эндометрия является крайне острой проблемой, превосходящей по сложности стимуляцию яичников и получение полноценного эмбриона [47]. На сегодняшний день, несмотря на активное обсуждение проблем ЭКО у пациенток, находящихся в возрасте позднего деторождения, не наблюдается значительного прогресса в повышении эффективности ВРТ в данной группе. Вероятно, это связано с наличием неучтенных причин, формирующих инфертильность у данного контингента пациенток, индивидуальной сочетаемостью у них различных патогенетических факторов бесплодия и отсутствием персонифицированной стратегии прекоцепционной и прегравидарной подготовки.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время преодоление овариального фактора бесплодия и отрицательных попыток ЭКО (низкий фолликулярный резерв и «бедный» овариальный ответ) у пациенток позднего репродуктивного возраста решается через модификацию протоколов стимуляции овуляции с использованием увеличения дозы препаратов рекомбинантного ФСГ (рФСГ) и/или их комбинации с препаратами рЛГ. Используется раннее введение рФСГ в лютеиновый период менструального цикла синхронно с агонистами гонадотропин-рилизинг гормона (аГнРг) в составе длинного протокола стимуляции. Назначаются разнообразные комбинации при установлении дозировки аГнРг, протокол Random-start, сочетанная стимуляция с применением препаратов, подавляющих ароматазу [50]. Тем не менее, все еще не существует общего решения об оптимальной тактике стимуляции суперовуляции у женщин со сниженным фолликулярным резервом при «бедном» овариальном ответе в программах ЭКО. Но даже при получении материала для оплодотворения современные процедуры ВРТ в настоящее время не могут решить фундаментальную проблему генетических нарушений, старения ооцитов, увеличения количества анеуплоидий и снижения потенциала развития яйцеклеток у пациенток позднего репродуктивного возраста. В данной литературе обсуждаются генетический фактор и особенности генов, входящих в когорту OOMD (дефекта созревании ооцитов) и PREMBL (предимплантационной зародышевой смертности) в возникновении и патогенезе бесплодия у пациенток, которые являются носителями неблагоприятных вариантов генов даже при достаточном количестве полученных ооцитов, в том числе и у возрастных пациенток [39]. Однако в рутинной практике данные методы молекулярно-генетической диагностики не используются. Активно развиваются методы визуализации и отбраковки эмбрионов, в том числе и технология «time-lapse», позволяющая анализировать события, происходящие во время эмбрионального развития. Активно внедряется предимплантационное генетическое тестирование полученных эмбрионов. Такие методы предимплантационного генетического тестирования (ПГТ), как ПГТ-А (анеуплоидия), ПГТ-СП (структурные

хромосомные перестройки) и ПГТ-М (моногенные заболевания) позволяют улучшить отбор бластоцисты перед ее переносом [35, 150]. При этом данные методы имеют высокую стоимость, а наличие мозаицизма и возможные ложноположительные результаты тестирования снижают эффективность методик и могут приводить к отбраковке нормальных эмбрионов, что для пар позднего репродуктивного возраста может быть критичным [79]. Способность эмбриона к имплантации повышает вспомогательный хетчинг, однако в технологиях его проведения существуют значительные различия, что требует стандартизации протокола для уменьшения вариабельности результативности метода и полноценной оценки его эффективности и безопасности [171].

Патология эмбриона, как причина неудачи имплантации в позднем репродуктивном возрасте, конкурирует с нарушением рецептивности эндометрия у данных пациенток [62]. Доказательные исследования, а также протокол стандартного обследования перед процедурой ВРТ [58, 73] подразумевает определенный паттерн поиска, который включает ультразвуковое исследование (УЗИ) матки и придатков в динамике, установление ряда показателей доплерометрии, диагностику картины шеечного микробиома, проведение гистероскопии и, далее, направление биопсийного материала матки для иммуногистохимического исследования, а также исследование рецептивности эндометрия женщин, у которых процедура ЭКО была неудачной. Указанный алгоритм позволяет диагностировать отклонения в рецептивности эндометрия с вероятностью 92,5% у женщин с хроническим эндометритом (ХЭ) и невозможностью забеременеть и родить [62]. При этом отсутствие условий для полноценного изолированного забора микробиоты эндометрия существенно отражается на диагностике причин нарушения рецептивности, что приводит к недооценке этиологии развития хронического эндометрита и не позволяет полноценно осуществить коррекцию эндометриального фактора. В качестве прайминга, с целью восстановления морфологии и рецептивной функции эндометрия, наиболее распространено назначение комбинированных оральных контрацептивов (КОК) и /или препаратов эстрогенов с последующей коррекцией

прогестероном лютеиновой фазы, введенное в протокол прегравидарной подготовки [30, 50]. У пациенток с хроническим эндометритом и «тонким» эндометрием дополнительно широко применяется метод ультразвуковой кавитации, позволяющий добиться восстановления эндометрия, увеличения толщины М-ЭХО и улучшения гемодинамических показателей маточного кровотока [1, 70]. Также для восстановления рецептивности эндометрия и устранения гипоперфузии яичников на этапе прегравидарной подготовки применяются препараты обогащённой тромбоцитами плазмы (PRP), которая содержит множество факторов роста и цитокинов, участвующих в эффективной регенерации тканей, индукции хемотаксиса, миграции и дифференцирования клеток [21].

Современные исследования уделяют все больше внимания влиянию антиоксидантного эффекта мелатонина на процесс созревания фолликулов, гаметогенез, процессы овуляции, оплодотворения и имплантации [14, 44]. Отмечается положительный эффект применения препаратов мелатонина в лечении вегетативных нарушений при климактерическом синдроме и преждевременной недостаточности яичников [5]. Имеются единичные исследования о возможности применения мелатонина и препаратов эпифиза, стимулирующих его выработку, в комплексном лечении преждевременной недостаточности яичников на фоне хронического сальпингита [8, 75]. В этих работах показано положительное влияние препаратов на состояние гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси, опосредованное снижение уровней ФСГ и ЛГ, увеличение уровня эстрадиола и стимулирующее влияние на рост фолликулов и формирование желтого тела. Однако состояние мелатонинового статуса, а также целесообразность применения препаратов эпифиза, стимулирующих выработку мелатонина с целью активации функции яичников и повышения результативности процедуры ВРТ у женщин в позднем периоде репродукции, фактически неизвестно. Резюмируя вышесказанное, можно отметить, что связанные со старением изменения фертильности приводят к пониманию необходимости тщательного их изучения и оценки, а также к адекватному лечению в соответствии с обнаруженными

причинами инфертильности у женщин с поздним бесплодием.

Цель исследования: повышение эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий у женщин позднего репродуктивного возраста путем разработки персонифицированной прегравидарной подготовки.

Достижение поставленной в работе цели предполагает решение **следующих задач:**

1. Провести ретроспективный анализ исходов программ ЭКО у женщин позднего репродуктивного возраста с учетом клинико-анамнестических данных, параметров имплантационного фактора, оогенеза и раннего эмбриогенеза.

2. Установить основные патогенетические факторы инфертильности и отрицательных попыток ЭКО у пациенток позднего репродуктивного возраста с неудачной попыткой ЭКО и отсутствием отягощенного соматического, гинекологического и акушерского анамнеза.

3. Оценить состояние микробиоты, иммуногистохимические параметры, уровень антимикробных белков и цитокиновый статус эндометрия у пациенток позднего репродуктивного возраста с неудачной попыткой ЭКО в анамнезе.

4. Установить влияние мелатонинового и оксидантного статусов на состояние овариального резерва, фолликуло- и эмбриогенеза у пациенток позднего репродуктивного возраста.

5. Разработать патогенетически обоснованную индивидуализированную программу прегравидарного обследования и подготовки к ЭКО пациенток с бесплодием в позднем репродуктивном возрасте и оценить ее эффективность.

Научная новизна исследования

В настоящем исследовании:

1. Впервые доказано, что в когорте условно здоровых женщин в позднем репродуктивном периоде наблюдается эпифизарная дисфункция, усугубляющаяся с возрастом, опосредованно приводящая к нарушению функционирования репродуктивной системы и снижающая естественную фертильность и результативность ЭКО.

2. Впервые выделено три кластера пациенток, отличающихся по ключевым

патогенетическим факторам бесплодия в позднем репродуктивном возрасте: доминирование ооцитарного фактора бесплодия (при достаточном количестве фолликулов и полученных ооцитов, отсутствует оплодотворение ооцитов или получены патологические формы, непригодные к переносу); преобладание имплантационной несостоятельности эндометрия с отсутствием признака «тонкого» эндометрия; сочетание овариального фактора («бедный ответ») и имплантационной несостоятельности эндометрия («тонкий эндометрий»).

3. Впервые проведен изолированный забор содержимого матки, который выявил наличие избыточной микробной обсемененности эндометрия, несмотря на отсутствие микрофлоры в содержимом цервикального канала у пациенток с имплантационной недостаточностью эндометрия в отсутствии признаков «тонкого» эндометрия.

4. Впервые установлено, что имплантационная несостоятельность эндометрия в отсутствии признаков «тонкого» эндометрия сопровождается наличием иммуногистохимических признаков умеренно выраженного хронического эндометрита с увеличением провоспалительного цитокинового индекса и уровня кателицидина цервикального секрета.

5. Впервые выявлено, что наличие «тонкого» эндометрия у пациенток позднего репродуктивного возраста и отсутствие бактериальной обсемененности соотносится со слабо выраженным аутоиммунным хроническим эндометритом с максимальным повышением фиброзирующей активности, обеднением ангиогенеза и максимальным снижением имплантационного фактора.

6. Доказано, что при наличии сочетания овариального фактора («бедный ответ») и имплантационной несостоятельности эндометрия («тонкий эндометрий») у пациенток снижено содержание мелатонина в периферической крови и фолликулярной жидкости.

7. Установлено, что включение в прегравидарную подготовку комплекса водорастворимых полипептидных фракций эпифиза у этих пациенток, улучшает показатели фолликулогенеза и эмбриогенеза, а также опосредовано положительно влияет на имплантационные свойства эндометрия.

8. Доказано, что комплексная индивидуализированная прегравидарная подготовка, учитывающая выявление и коррекцию ведущих патогенетических факторов, позволяет повысить эффективность ВРТ у пациенток позднего репродуктивного возраста.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенной работы систематизированы наиболее значимые клинические, микробиологические, иммунологические и иммуногистохимические факторы, в результате чего выделено три кластера пациенток, отличающихся по ключевому патогенетическому фактору бесплодия в позднем репродуктивном возрасте. Расширены и научно обоснованы дополнительные факторы инфертильности в позднем репродуктивном возрасте. Сформулирована концепция о роли эпифизарных дисфункций в формировании возрастных особенностей функционирования нейрогуморальной регуляции репродуктивной системы, ведущих к угнетению репродуктивной функции. Практическая ценность настоящей работы определяется тем, что с учетом полученных выводов отечественному здравоохранению предлагается программа персонифицированной прегравидарной подготовки к программе ЭКО (диагностический и терапевтический комплекс) у пациенток с бесплодием в позднем репродуктивном периоде, которая позволяет повысить результативность ВРТ.

Методология и методы исследования

Основные методологические принципы диссертационной работы базируются на теоретическом анализе современного состояния проблем деторождения у женщин позднего репродуктивного возраста и, кроме того, включают большой комплекс клинико-лабораторных и инструментальных исследований. Из нетеоретических методов можно выделить:

– обследование пациенток согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 31.07.2020 г. № 803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению»;

– клинико-лабораторные исследования (включая акушерский осмотр);

- определение показателей запаса яйцеклеток (число антральных фолликулов, концентрация антимюллерового гормона (АМГ));
- выявление гормонального фона (гормоны гонад, гормоны щитовидной железы и надпочечниковые гормоны);
- диагностика цитокинового спектра и факторов роста в слизи шейки матки;
- аппаратная диагностика (УЗИ щитовидной железы, молочных желез, органов малого таза);
- иммуногистохимический анализ (установление концентрации рецепторов к половым гормонам в ткани матки);
- исследование микробиома матки и шейки матки;
- полученные данные обрабатывались с помощью программного пакета Statistica 10.0 (США).

Положения, выносимые на защиту

1. У пациенток позднего репродуктивного возраста, в отсутствии осложнённого гинекологического и репродуктивного анамнезов, выделены три ведущих патогенетических варианта infertility: доминирующий ооцитарный фактор, преобладающая имплантационная несостоятельность эндометрия, ассоциированная с хроническим эндометритом умеренной активности на фоне инфицирования эндометрия патогенной и условно-патогенной микрофлорой, сочетание «бедного» овариального ответа с аутоиммунным хроническим эндометритом, что должно учитываться при проведении прегравидарной подготовки.

2. Выраженное снижение уровня мелатонина (Me) в периферической крови и фолликулярной жидкости, отмечается у пациенток при наличии «бедного» овариального ответа и «тонкого» эндометрия, обеспечивая нарушения фолликулогенеза и снижение антиоксидантной защиты яйцеклетки в фолликуле.

3. Включение в прегравидарную подготовку комплекса водорастворимых полипептидных фракций эпифиза у пациенток с «бедным» ответом яичников и «тонким» эндометрием, компенсирует дефицит мелатонина на системном и локальном уровнях и повышает эффективность процедур ЭКО за счет улучшения

качества ооцитов и функциональной активности эндометрия.

4. Комплексная индивидуализированная прегравидарная подготовка к циклам ЭКО с выявлением ведущих патогенетических вариантов infertility и персонифицированной их коррекцией позволяет повысить эффективность ВРТ у пациенток позднего репродуктивного возраста.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные научные положения настоящей работы подкреплены эмпирическими изысканиями, базирующимися на теоретическом и практическом фундаменте. Достоверность полученных данных аргументируется большим объемом клинических результатов. Большой перечень современных клинических и лабораторных тестов был методологически верно использован. Статистический анализ полученных результатов был проведен непосредственно автором с использованием специализированного программного пакета.

Результаты проделанной работы были представлены на федеральных и межрегиональных конференциях, семинарах и форумах: научно-практическая онлайн-конференция «Женское здоровье. Практикум акушера-гинеколога: актуальные вопросы репродуктологии» (Краснодар, 2021 г.), Межрегиональная научно-практическая конференция «Сохранение здоровья женщин при наиболее значимой акушерской и гинекологической патологии» (Майкоп, 2022 г.), III Южно-Российский медицинский конгресс «Актуальные вопросы акушерства и гинекологии» (Краснодар, 2023 г.), XVII Общероссийский научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2023 г.), Научно-практическая конференция «Женское здоровье. Практикум акушера-гинеколога: Репродукция и беременность – преодоление проблем» (Краснодар, 2024 г.), «Женское здоровье. Практикум акушера-гинеколога: Возрастные аспекты гинекологической патологии. От менархе до менопаузы» (Краснодар, 2024 г.), XXV Юбилейном Всероссийском научно - образовательном форуме «Мать и Дитя – 2024» (Москва, 2024 г.).

В завершённом виде диссертация представлена и обсуждена 11 февраля 2025 года (протокол №8) на совместном заседании кафедры акушерства, гинекологии и

перинатологии №1 и кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии №2 ФГБОУ ВО КубГМУ МЗ РФ.

Диссертационное исследование соответствуют п.1 «Исследования по изучению эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний», п.4 «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний, п.5 «Экспериментальная и клиническая разработка методов оздоровления женщины в различные периоды жизни, вне и во время беременности и внедрение их в клиническую практику» паспорта специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

Внедрение результатов исследования

Результаты, полученные в рамках эмпирической части представленной работы, были апробированы в работе женской консультации и отделениях ГБУЗ Родильного дома г. Краснодара (г. Краснодар, ул. Комсомольская, д. 44), Клиники ФГБОУ ВО КубГМУ (г. Краснодар, ул. Зиповская, 4/1), ООО СП МЦ ЭКО «Эмбрио» (г. Краснодар, ул. генерала Шифрина 5). В итоге апробации данные результаты были подтверждены на практике. Научно-исследовательские материалы, сформированные в ходе диссертационного исследования, находят свое применение в процессе обучения студентов, клинических ординаторов и аспирантов ФГБОУ ВО КубГМУ МЗ России, (г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4), на кафедре акушерства, гинекологии и перинатологии №1.

Личный вклад автора

Автор диссертации принимала участие в выборе темы работы, разработке дизайна исследования, подборе и формировании когорты пациенток, составлении анкет и индивидуальных карт. Принимала непосредственное участие в анализе полученных результатов и статистической обработке данных. Самостоятельно провела кластерный анализ и разработала программу персонифицированной прегравидарной подготовки пациенток с бесплодием в позднем репродуктивном возрасте. Подготовлены доклады и статьи. Автор непосредственно курировала пациенток и осуществляла общую координацию программы ВРТ, назначала

протоколы прегравидарной подготовки, участвовала в большинстве этапов ЭКО.

Публикации по теме диссертации

Результаты, полученные при проведении диссертационного исследования, опубликованы в 8 печатных работах, из них 4 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, или индексируемых базой данных RSCI, или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к ним, в том числе 1 – в журналах, индексируемых в международной библиографической и реферативной базе данных SCOPUS.

Структура и объем диссертации

Содержание диссертации представлено на 227 страницах и включает: введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы», 3 главы собственных исследований, обсуждение результатов исследования, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список использованной литературы и список иллюстративного материала. Библиографический указатель содержит 247 источников: 75 отечественных работ и 172 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 81 таблицами, 21 рисунком и 3 схемами.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ, ДИАГНОСТИКЕ И ТАКТИКЕ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С БЕСПЛОДИЕМ В ПОЗДНЕМ РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Распространение бесплодия в женской популяции

Бесплодие относится к одному из важнейших показателей статуса фертильности у женщин и мужчин. В соответствии с положениями ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology), среди всего населения Земли примерно каждая 6 пара на протяжении фертильного возрастного периода страдает различными нарушениями способности к деторождению. Только в Европейском союзе бесплодие затрагивает примерно 25 миллионов граждан [117].

Глобальная распространенность бесплодия колеблется от 8% до 12%, в некоторых регионах достигает 30%. Даже при наиболее эффективных методах диагностики в 10% случаев объяснить причину бесплодия не удастся, что определяет активное изучение потенциальных факторов его риска [135]. Во всем мире с проблемой бесплодия сталкиваются порядка 48 миллионов пар и 186 миллионов человек [55].

Данные Росстата говорят о том, что на территории Москвы на протяжении более чем 10 лет (с 2011 г. по 2024 г.) частота диагностики бесплодия в женской популяции увеличилась трехкратно, в то же время по всей территории России произошло увеличение частоты бесплодия на 1/3. Частота выявления бесплодия у женщин в городе Москва в 2021 году равнялась 735,9 на 100 тыс. женщин, что ниже аналогичного параметра в среднем по России и превосходит аналогичные показатели для мужчин в 64 раза. Суммарные потери потенциальных деторождений по нарушениям фертильности женщин за тот же период в Москве соответствовали 16%, а по всей России – 18% [61]. В мета-аналитическом обзоре, включающем 32 исследования с низким риском систематической ошибки и учитывающим данные 124 556 женщин, было показано, что распространенность

первичного и вторичного бесплодия составляет 46,26% и 51,5% соответственно [133]. Ухудшение демографической структуры с увеличением среднего возраста и повышение экономической нагрузки на работающее население, делают актуальными проблемы поддержания репродуктивного потенциала общества и меры, направленные на повышение фертильности женщин. К доминирующим факторам снижения репродуктивного потенциала относятся падение естественной фертильности, как результат возрастания случаев инфертильности и уменьшения социальной репродукции из-за позднего деторождения, так и повышения частоты сознательной бездетности (чайлдфри), которая стала менее критично восприниматься обществом [140]. Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) стали главным инструментом в терапии бесплодия в практике репродуктивной медицины последних лет, демонстрируя значительные успехи в поддержании репродуктивного потенциала человеческой популяции. С учетом отсрочки рождения детей и пересмотра приоритетов с реализации функции материнства в пользу других социальных предпочтений, ВРТ дают возможность обеспечить деторождение супружеским парам, настроенным на осознанное материнство/отцовство, но не способным по разным причинам реализовать свои намерения. На сегодняшний день в российских и иностранных публикациях достаточно охарактеризованы возможности вспомогательных репродуктивных технологий, предпринимаются попытки оценивать и прогнозировать их исходы, оперируя данными о статусе репродуктивного здоровья [101], влияния различных внешних природных средовых факторов, неблагоприятных условий производства, влияния алкоголя и табакокурения. Ряд исследователей указывают на тот факт, что терапия бесплодия современными методами может быть излишне дорогостоящей для многих супружеских пар [88, 120, 134]. Страховое покрытие медицинских услуг при бесплодии демонстрирует значительное влияние национальной политики в сфере здравоохранения на общую стоимость ведения и лечения бесплодия [160]. За время написания диссертации практически не встречались публикации, в которых обсуждалась тема оптимизации ВРТ у женщин в периоде поздней репродукции: это и стало определяющим фактором выбора темы

настоящей работы.

Материнство в позднем детородном возрасте — это тенденция, возникновением которой ознаменовалось начало XXI века в России и во всем мире [2, 26, 29, 126, 187]. Однако физиологическая вероятность получения потомства женщинами, желающими родить ребенка в возрасте поздней фертильности, лимитируется связанным с возрастными процессами ухудшением репродуктивной функции и, как следствие, неспособностью родить. Из-за этого затруднения, связанные с отложенным материнством, тесно сопряжены с задачей реабилитации способности к деторождению при помощи вспомогательных репродуктивных технологий. Разные исследователи считают, что вероятность наступления беременности у женщин в позднем репродуктивном возрасте не превышает 15% [115, 120]. Это обусловлено природными процессами, связанными с ухудшением функционирования яичников [227], и увеличением количества ооцитов с измененным хромосомным набором, что в целом снижает возможность наступления беременности [7, 73, 96, 116, 154, 181].

В области репродуктологии к женщинам в позднем детородном периоде, как правило, относят пациенток 36 лет и старше [17, 48]. Ежегодно ESHRE [117] и РАРЧ (Российская ассоциация репродукции человека) [58] делают доступными свои результаты по числу выполненных программ вспомогательных репродуктивных технологий, количеству достигнутых беременностей и иным показателям по всем регионам и странам, согласно предложенным ESHRE возрастным стратам – до 34, 35–39 и более 40 лет. В соответствии с информацией, предоставляемой РАРЧ, в нашей стране доля женщин, возраст которых соответствует позднему детородному периоду и которые принимают участие в программах ВРТ, составляет: по программе экстракорпорального оплодотворения (сокращенно – ЭКО) – 50,8% от всех пациенток, прошедших процедуру ЭКО; в программах с применением стратегии интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит (ИКСИ) – 53,99% женщин [58].

Из приведенных выше публикаций следует, что количество женщин позднего детородного возраста в программах ВРТ достигает более половины от

всех пациенток, тем не менее, среди них в основном наблюдаются пациентки 35-39 лет. Пациентки в старшем репродуктивном возрасте представляют заметную долю пациенток с неуспешными результатами программ вспомогательных репродуктивных технологий. В рассматриваемой возрастной группе параметры наступления беременности статистически ниже, чем у молодых пациенток, а также у пациенток с удовлетворительным ответом яичников [58, 124, 170]. У данной группы женщин наблюдается снижение вероятности зачатия по отношению к каждому менструальному циклу, уменьшение эффективности процедур ВРТ. Частота живорождений у пациенток с субоптимальной реакцией яичников на лекарственную активацию суперовуляции меньше, чем при удовлетворительном ответе на стимуляцию. Возрастная стратификация женщин с бесплодием в программах ВРТ имеет под собой веские основания из-за усиливающейся с возрастом потери овариального или фолликулярного резерва.

1.2 Причины женского бесплодия

В различных публикациях упоминается чрезвычайно большое количество факторов, ассоциированных с ухудшением женской репродуктивной функции. В числе эндокринных факторов женского бесплодия чаще всего выделяют гиперандрогению, гиперпролактинемию, гипозэстрогенемию, синдром Иценко-Кушинга, ухудшение нормального функционирования в гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. Бесплодие также связывают с нейроинфекциями, черепно-мозговыми травмами, органной и эндокринной патологией, дефицитом секреторной стадии эндометрия и нарушением его рецептивности, трубно-перитонеальной патологией, психогенными причинами, воспалительными процессами эндометрия и органов малого таза [12, 90, 107, 108, 149, 194, 227].

Среди эндокринных причин, нарушающих процессы овуляции, можно отметить следующие:

- сахарный диабет I и II типов;
- гиперпролактинемию;

- гипотиреоз;
- гиперплазию коры надпочечников;
- синдром поликистозных яичников;
- гипофизарные нарушения любого происхождения;
- недостаточность яичников, связанную с дефицитом гонадотропных гормонов;
- депрессию, стресс;
- наследственную патологию (дисгенезия гонад, синдром Шерешевского-Тернера и др.);
- ожирение [55].

Кроме того, на способность к деторождению могут влиять условия окружающей среды, производственные вредности, алкоголизм, недостаток йода, витамина Д [63, 97, 99, 114, 143, 241].

На долю гиперпролактинемии приходится до 40% диагнозов эндокринного бесплодия. В условиях гиперпролактинемии изменяется пульс-секреция гонадотропин-рилизинг гормона в организме женщины, что сопровождается снижением выработки гонадотропинов. Последнее вызывает гипогонадизм, менструальные расстройства с подавлением фертильной функции [20].

Крайне неблагоприятно на детородной функции сказываются воспалительные процессы в малом тазу, диагностируемые у 60-65% женщин репродуктивного возраста и в 52% случаев речь идет о смешанной бактериально-вирусно-грибковой инфекции, включающей от 3 до 7 возбудителей. Даже несмотря на хорошо подобранную этиотропную терапию, у четверти женщин острое воспаление переходит в хроническую форму, развиваясь в такую патологию, как хронический эндометрит, хронический оофорит/сальпингоофорит/сальпингит, которые составляют подавляющую часть от общего числа всех заболеваний в гинекологии [12].

Основные причины бесплодия у женщин – это непроходимость маточных труб (30%), заболевания матки (18%), заболевания не установленной причины (7%), сниженный иммунитет (5%), психоэмоциональные нарушения (5%).

Распространенность эндокринного бесплодия может достигать 35 – 40% среди всех возможных причин [53].

Для привычного невынашивания беременности часто характерно изменение клеточно-цитокиновой среды в секреторной стадии менструального цикла. У здоровых женщин в секреторной фазе в эндометрии преобладают Т-супрессорные клетки, а у женщин с бесплодием – моноцитарно-макрофагальные ассоциации, повышается количество CD16+ и CD57+ лимфоцитов, но уменьшается число Т-супрессоров. Подобная клеточная среда продуцирует избыток эмбриотоксических цитокинов – гамма-интерферона и ИЛ-12, стимулирующих размножение CD4+ лимфоцитов, которые, в свою очередь, синтезируют провоспалительные цитокины, активирующие реакции свободно радикального окисления. Распространение воспаления и нарушение межклеточных взаимоотношений предотвращает имплантацию бластоцисты, препятствуя наступлению беременности. Воспаление в области маточных труб сопровождается активацией Т-клеточного иммунитета, что, в числе прочего, вызывает высвобождение значительного количества фактора некроза опухоли альфа, который индуцирует протеолиз, после чего развивается рубцевание и фиброз ткани [12].

Дисбиоз влагалищной, эндометриальной, плацентарной микробиоты может отражаться на женской фертильности, влияя на частоту преждевременных родов и развитие неонатальных заболеваний. Обмен микробиотой при незащищенном половом контакте требует персонализированного лечения обоих партнеров [227].

Было установлено, что курение повышало риск возникновения бесплодия в 1,85 раз (95% ДИ 1,08-3,04), а психологический дистресс – в 1,63 раза (95% ДИ 1,24-2,13). Депрессия наблюдалась у женщин с бесплодием в 1,4 раза (95% 1,11-1,75) чаще, чем у фертильных, что поднимает вопрос о причинно-следственной связи двух патологий [133]. У женщин с ожирением отмечалось снижение фертильности на 18% [136].

В исследовании W. Xu et al. (2022) продемонстрировано, что с высоким риском женского бесплодия сопряжены некоторые показатели маркеров жирового обмена в сыворотке крови, включая общее количество жирных кислот (ОШ: 1,16,

95% ДИ 1,03- 1,30), омега-6 жирных кислот (ОШ: 1,14, 95% ДИ 1,00-1,27), мононенасыщенных жирных кислот (ОШ: 1,14, 95% ДИ 1,03-1,28) [232].

Синдром поликистозных яичников (СПЯ) ассоциируется со снижением фертильности и при такой патологии очень важна правильная прегравидарная подготовка. У женщин с СПЯ наблюдаются более частые осложнения во время беременности и в родах, что усугубляется ожирением, гиперандрогенией, более выраженным, по сравнению с нормой, гестационным набором веса. Таким женщинам рекомендуется регулярно измерять уровень глюкозы, массы тела, артериальное давление. Следует настаивать на отказе от курения, употребления алкоголя, а также соблюдать диету, выполнять физические упражнения, обеспечивать достаточную продолжительность сна, поддерживать психическую стабильность. Назначение метформина может дополнять нормализацию образа жизни и помогать в регулировании веса и снижении кардиометаболических факторов риска, особенно при ожирении. У женщин с СПЯ летрозол является препаратом первой линии для лечения ановуляторного бесплодия [86]. На способность к овуляции при СПЯ влияет, помимо прочих, фактор питания. Положительное влияние на процесс овуляции оказывают углеводосодержащие продукты с низким гликемическим индексом, растительный белок, моно- и полиненасыщенные жирные кислоты, фолиевая кислота, витамин D, железо, антиоксиданты. К алиментарным факторам, негативно влияющим на процесс овуляции, относят углеводсодержащие продукты с высоким гликемическим индексом, избыток животного белка, насыщенные жирные кислоты, трансжиры. Негативное влияние алкоголя на женскую фертильность связано с изменением гормональной регуляции, нарушением менструального цикла, уменьшением овариального запаса, нарушением нормального созревания фолликулов и овуляции. Прием содержащих алкоголь напитков способствует повышению концентрации эстрогена, приводит к закономерному уменьшению концентрации ФСГ и ановуляции [148].

1.3 Бесплодие, связанное с дисфункцией яичников

Фолликулярный резерв отражает полноценность яичников, определяя их потенциал к ответу на стимулирующие факторы увеличением числа фолликулов, содержащих яйцеклетки. Процессы старения в женском организме приводят к снижению пула яйцеклеток и ухудшению их качества. С момента рождения у девочек начинается массовая атрезия фолликулов, которые были заложены в яичниках во время эмбрионального развития: указанные процессы продолжают до менопаузы. Максимальная потеря фолликулов наблюдается в возрастном промежутке 37-38 лет с некоторыми вариациями [218]. Так или иначе, наблюдается возрастное сокращение фолликулярного резерва.

Регуляция циклической деятельности женской половой системы в репродуктивном возрасте обеспечивается совокупностью сложного механизма прямых и обратных связей периферических органов (яичников) с центральной нервной системой. Открытие и изучение гонадотропин-ингибирующего гормона (ГНИГ) и кисспептина, в роли основных медиаторов репродуктивной функции, позволило углубить понимание высших звеньев патогенеза центральных аменорей, стрессовых аменорей, преждевременного полового созревания и преждевременной недостаточности яичников [5]. Гонадоингибин замедляет продукцию и секрецию гонадотропинов посредством прямого влияния на гонадотрофы гипофиза и способствует подавлению деятельности ГнРГ1-нейронов через собственный рецептор, а также мешает пульсовой секреции гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) в гипоталамусе [224]. Кисспептин стимулирует высвобождение ГнРГ в соответствующих нейронах. Нейроны кисспептина в репродуктивном периоде экспрессируют и тонически подавляются сигналами эстрогена, вероятно обеспечивая отрицательную обратную связь половых стероидов с ГнРГ [109, 137]. Установлено, что кисспептин активирует ГнРГ-нейроны, осуществляя косвенное воздействие на разные этапы гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы. Нейроны ГнРГ и нейроны кисспептина экспрессируют рецептор ГНИГ, и по этой причине существует механизм обратного взаимодействия [27, 76, 233].

Однако исследования, касающиеся влияния гонадоингибина и кисспептина на секрецию гонадотропинов у женщин в позднем репродуктивном возрасте, перименопаузе и менопаузе, остаются недостаточными и противоречивыми [211]. Выявлено, что ГнИГ оказывает влияние на гипофиз и мозг, регулируя репродуктивную функцию, а также через измененный биосинтез нейростероидов в мозге способствует образованию других нейростероидов путем активации или инактивации их стероидогенных ферментов. Известно, что стероидогенные ферменты экспрессируются не только в головном мозге, но и в эпифизе. На сегодняшний день учеными ведется активная работа по изучению роли гипоталамических нейропептидов в изменении нейростероидной среды в головном мозге и эпифизе [222].

Основным эпифизарным продуктом является мелатонин. Недавно появились публикации о том, что мелатонин очень важен в качестве синхронизатора репродуктивной деятельности, в том числе полового созревания, процессов в гонадах, нидации, беременности, живорождения, управления суточными и сезонными циклами активности. Антиоксидантные свойства, иммуномодуляция и контролирующее действие мелатонина считаются важными качествами, воздействующими на все уровни гипоталамо-гипофизарно-гонадной регуляции (Hypothalamic–Pituitary–Gonadalaxis – HPG) [202, 245]. Яйцеклетки, гранулезные и лютеиновые клетки синтезируют мелатонин, который, вероятно, способствует его концентрации в фолликулярной жидкости. Выявлено, что концентрация мелатонина в фолликулярной жидкости у женщин активного репродуктивного возраста превышает концентрацию в крови [16, 216].

Известно, что избыточное образование активных форм кислорода, в том числе и в митохондриях, повреждает важнейшие молекулы, которые ставят под угрозу функцию яйцеклеток, что в итоге приводит к репродуктивной недостаточности. Мелатонин, пинеального и экстрапинеального происхождения, является мощным прямым поглотителем свободных радикалов и напрямую защищает все компоненты яичника от окислительного повреждения, которое является следствием локально генерируемых активных форм кислорода и

активных форм азота [237].

Некоторыми исследованиями установлено, что мелатонин непосредственно влияет на ГНИГ-нейроны, усиливая продукцию и секрецию гонадоингибина [27]. Мелатонин экстрапинеального или пинеального происхождения может оказывать влияние на стероидогенез в яичниках человека [105]. В нескольких исследованиях было заявлено, что мелатонин стимулирует секрецию прогестерона и 17β -эстрадиола яичниками млекопитающих, в том числе у человека [199]. Мелатонин может способствовать прогрессированию клеточного цикла посредством регуляции уровней мембранного потенциала митохондрий, уровней аденозинтрифосфата, активных форм кислорода и материнской мРНК, потенциально увеличивая первое расщепление партеногенетических зигот и их последующее эмбриональное развитие [190].

Таким образом, обобщение физиологических и молекулярных действий мелатонина позволяют предположить, что его применение в ходе лечения инфертильности в позднем репродуктивном периоде для улучшения работы яичников, может способствовать повышению продукции яйцеклеток хорошего качества, а также улучшению результатов ЭКО у женщин рассматриваемой группы со сниженным овариальным резервом. Помимо прямого введения экзогенного мелатонина, возможно применение комплекса низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций, выделенных из эпифиза крупного рогатого скота, который стимулирует синтез эндогенного мелатонина путем стимуляции выброса гонадоингибина. Препарат в доклинических исследованиях улучшал репродуктивную функцию у пациенток с преждевременной недостаточностью яичников и репродуктивную функцию у пациенток с бесплодием в позднем репродуктивном возрасте, вероятно, за счет повышения качества яйцеклеток и уменьшения их атрезии [5].

Опубликованы работы, в которых изучали разные параметры для интерпретации фолликулярного резерва и предсказывали реакцию яичников в ответ на их стимуляцию: продолжительность менструального цикла, размер яичников, возраст женщины, число антральных фолликулов, содержание в

сыворотке фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), ингибина В, тестостерона. Фолликулярный резерв определяется, в первую очередь, по результатам ультразвукового исследования: числу антральных фолликулов в яичниках и параметру биохимического исследования — уровню АМГ в сыворотке крови. По общему мнению, АМГ рассматривается как самый удачный предиктор ответа яичников, если учитывать также возраст, концентрацию ФСГ, эстрадиола, ингибина, число антральных фолликулов [81, 141, 170].

По мнению Корольковой А. И. и соавт. (2018) на основании ряда исследований, отсутствует некий консенсусный уровень АМГ, при снижении параметра которого беременность никогда не наступит у пациенток в периоде поздней фертильности [33]. Хотя диагностика уровня АМГ имеет некоторую пользу при консультировании пар с бесплодием, его низкое содержание не оказывает негативного влияния на последующий исход беременности у женщин с привычным невынашиванием [183].

Нет сомнения, что репродуктолог обязан принимать во внимание анамнез и возраст женщины: анамнестические данные о вмешательствах на яичниках и матке, результаты предшествующих программ вспомогательных репродуктивных технологий, на стадии сбора анамнеза специалист может отметить укорочение на 2-3 дня менструального цикла на протяжении нескольких последних циклов.

Изучение практики 425 российских репродуктологов обнаружило, что у пациенток с хорошим ответом на стимуляцию, уровень АМГ колебался в диапазоне 1,5-3,7 нг/мл, у женщин с бедным ответом этот показатель составлял 0,3-1,4 нг/мл, а при гиперответе – 3,8-15 нг/мл [11].

Необходимо подчеркнуть, что улучшение показателей и изобретение инновационных методов вспомогательных репродуктивных технологий не осуществимы без исследования механизмов контроля имплантации.

Достижение беременности с большой вероятностью определяют 2 фактора: полноценный эуплоидный эмбрион и нормальная рецептивность эндометрия.

В активном жизненном периоде, когда еще возможно использование собственных яйцеклеток, у женщин в позднем репродуктивном возрасте

результаты ЭКО хуже в сравнении с группой молодых пациенток, что связано с прогрессирующим, по мере старения, истощением запаса яйцеклеток. Это приводит к так называемому бедному ответу, то есть снижению реакции яичников в ответ на стимуляцию.

Помимо перечисленных неблагоприятных явлений, снижение качества ооцитов и эмбрионов сопровождается уменьшением их способности к имплантации в толщу эндометрия, результатом чего является снижение вероятности зачатия. Также следствием сниженного качества эмбрионов является повышение частоты биохимически неразвивающихся беременностей или остановка ранее диагностированной беременности, приводящие к ранним антенатальным потерям, а также рождению детей с патологией развития. Установлено, что вероятность диагностики патологии эндометрия, определяющей уменьшенную возможность имплантации при бесплодии, составляет 88%, а при неуспешных попытках ЭКО – 77,5%, и значительно возрастает в позднем периоде деторождения [37]. Морфологический и функциональный статус эндометрия обуславливает способность забеременеть, а также определяет благополучное течение и исход беременности.

Современные процедуры ВРТ не смогли решить фундаментальную проблему старения ооцитов, увеличения количества анеуплоидии яйцеклеток и снижения потенциала развития яйцеклеток. Созревание яйцеклеток, которое инициируется лютеинизирующим гормоном (ЛГ) *in vitro*, или путем инъекции хорионического гонадотропина человеческого (ХГЧ) в клинике репродуктивной медицины, является критической стадией, на которой возникают предпосылки для появления большинства анеуплоидий и когда устанавливается большая часть потенциала развития яйцеклетки.

В опубликованном исследовании Тао Y. et al. (2019) предлагают алгоритм, позволяющий повысить качество ооцитов у женщин в позднем детородном возрасте путем возобновления стабильного созревания яйцеклеток [217]. Авторы определили нехватку продукции путресцина в яичниках как фактора снижения качества яйцеклеток у старых самок мышей. С точки зрения структуры, путресцин

– это биогенный полиамин, который продуцируется в перивуляторном яичнике.

Соответственно, перивуляторное введение путресцина приводит к уменьшению количества анеуплоидных яйцеклеток и повышает качество эмбрионов, снижает вероятность выкидыша у старых мышей. Данные, связанные с аналогичными исследованиями у людей, демонстрируют, что нехватка орнитиндекарбоксилазы яичников, связанная с поздним репродуктивным возрастом женщин, способствует уменьшению продукции путресцина. По мнению авторов, перивуляторные инъекции путресцина, в сочетании с другими методами ВРТ, могут быть эффективной стратегией повышения фертильности в позднем репродуктивном возрасте.

В настоящее время активно тестируются технологии, улучшающие созревание ооцитов *in vitro*, включая предварительное культивирование в пленке альгината бария, в трехмерной агарозной матрице, в средах с добавлением ФСГ, ресвератрола, нобилетина и т.д. [145].

Внутрияичниковая инфузия богатой тромбоцитами плазмы оказалась эффективной стратегией омоложения яичников с последующим циклом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). Было обнаружено, что такое лечение полезно с точки зрения улучшения параметров овариального резерва: увеличения уровня АМГ, количества антральных фолликулов, снижения содержания фолликулостимулирующего гормона [125, 136, 167, 179, 191].

1.4 Анеуплоидия как причина бесплодия

Анеуплоидия считается одной из главных причин бесплодия, невынашивания беременности и врожденных патологий. Ошибки хромосомных сегрегаций и анеуплоидий заметно увеличиваются у пациенток старше 35 лет [103]. Из-за откладывания деторождения проблема бесплодия приобретает большую актуальность. Рост числа анеуплоидий гамет обусловлен нарушениями в аппарате веретена деления, окислительным стрессом и повреждением митохондрий. Старение яичников сопровождается снижением способности к обезвреживанию

активных форм кислорода, в результате чего индуцируется клеточное повреждение [184].

Старение яичников сопровождается повышением коэффициента рекрутирования примордиальных фолликулов с сокращением овариального резерва, что вероятно связано с исчезновением пролиферативных зародышевых клеток в яичниках женщин [184].

Гаметогенез является наиболее важным компонентом женской фертильности. Незрелые половые клетки проходят через 2 деления – мейоз I и II, и в конечном итоге из диплоидных ($2n$) клеток образуются гаплоидные ($1n$) гаметы. В профазе I мейоза осуществляется рекомбинация участков гомологичных хромосом (процесс кроссинговера). Повторный запуск мейоза I происходит под воздействием лютеинизирующего гормона во время полового созревания, из-за чего хроматин созревает и возникают веретена деления, осуществляется выравнивание хромосом и экструдируется первое полярное тельце. После этого ооциты вступают в мейоз II и задерживаются в метафазе II до оплодотворения. После проникновения сперматозоида мейоз II полностью завершается [212]. Анеуплоидия в клетках человека возникает вследствие не расхождения целых хромосом или сестринских хроматид во время мейоза ооцитов, однако имеются случаи частичных или сегментарных анеуплоидий. Любые нарушения процесса кроссинговера могут приводить к сегрегации непарных гомологов во время мейоза I.

Исследование на мышах показывает, что прогрессирующее истощение хромосомного когезина ооцитов во время старения самок ассоциируется с ухудшением бивалентной структуры хромосом, что объясняет возрастное увеличение анеуплоидии ооцитов [172]. Патология ассиметричного цитогенеза, связанная с дефицитом белка Arp2/3 (играет роль в нуклеации актина), приводит к нарушению движения веретена деления к периферии ооцита и отсутствию первого полярного тельца. Дефицит перицентрина (выполняет функцию центриолей) и других белков перицентриолярного матрикса у мышей приводило к нарушению сборки веретена деления и неправильному выравниванию хромосом. Истощение белка Аугмина или его ингибирование способствуют полимеризации

микротрубочек, ошибке кластеризации центров организации микротрубочек [231]. Старение сопровождается повышением частоты мозаицизма, который может выявляться у эмбрионов с правильной морфологией, что объясняется механизмом самокоррекции на ранних стадиях постимплантации [100]. Эуплоидные бластоцисты, взятые у пожилых пациенток, обладают тем же имплантационным потенциалом, как и те, что взяты у молодых. Это говорит о ведущей роли анеуплоидии в бесплодии у женщин в позднем детородном периоде [231].

Содержание митохондриальных ДНК (мтДНК) в ооцитах является критичным для реализации фертильности. Изначально высокое содержание мтДНК в зрелых ооцитах помогает предотвращать передачу вредных митохондриальных мутаций следующему поколению [151]. Женские гаметы с пониженным содержанием мтДНК дают начало эмбрионам с плохой компетентностью развития, а измерение содержания мтДНК дает дополнительную информацию о качестве ооцита и компетентности эмбриона [216, 225]. Критическим порогом для нормального эмбрионального развития служат 40000-50000 копий мтДНК в ооците [174]. Предполагаемые механизмы, посредством которых митохондрии приводят к старению яичников, включают накопление митохондриальных мутаций, митохондриальную дисфункцию, нарушение слияния и деления, изменение мембранного потенциала, измененный метаболизм и дефекты в цепи переноса электронов [105]. Многие зародышевые клетки содержат мутации в мтДНК и хромосомные перестройки (делеция 4,9 т.п.н. и др.), что приводит к компенсаторному увеличению количества мтДНК. В результате наступает дефицит продукции АТФ в ооците, влияющий на сегрегацию хромосом. Ранее сообщалось, что делеция $\Delta mtDNA4977$ обнаруживалась в ооцитах 93% пациенток, участвующих в протоколе ЭКО старше 37 лет и только у 28% пациенток молодого возраста [174, 225].

Анеуплоидия действительно является основной проблемой достижения репродуктивного успеха. Выявлено, что 20% всех ооцитов человека являются анеуплоидными, хотя их количество может колебаться индивидуально от 10% до 40 – 60%. Преимплантационное генетическое тестирование позволяет улучшить

отбор бластоцисты перед ее переносом [231]. Однако наличие мозаицизма снижает эффективность PGT-A и приводит к отбраковке нормальных эмбрионов, что критично для пожилых пар [129].

1.5 Причины бесплодия, связанные с патологией матки и эндометрия

На бесплодие, связанное с маточным фактором, приходится от 2,1% до 16,7% причин бесплодия женщин. В среднем 1 из 500 женщин страдает бесплодием с маточным фактором, который вызван либо отсутствием матки, либо ее дисфункцией по многим причинам. Наиболее часто речь идет об агенезии матки, гистерэктомии, пороках развития, радиационно-индуцированных состояниях, аденомиозе, синехиях и синдроме Ашермана, миоме, полипах матки и т.д. Распространенность указанной патологии очень неоднородна в различных популяциях [205].

Рецидивирующая неудача имплантации может быть определена как отсутствие беременности, несмотря на перенос ≥ 3 бластоцист хорошего качества, и в половине вариантов она ничем не объясняется. Отсутствуют эффективные методы лечения рецидивирующей неудачи имплантации [132].

С рецептивностью эндометрия в значительном ряде случаев связаны неудачи имплантации. Рецептивность эндометрия – это комплексный процесс, по результатам которого эмбрион прикрепляется, проникает в эндометрий и развивается. Завершается указанный процесс появлением потомства. Окно имплантации у женщин длится 3-6 дней в секреторной фазе менструального цикла. При воспалительных заболеваниях, анатомических девиациях и прочей патологии, окно имплантации может сужаться, либо смещаться во времени, что приводит к бесплодию и невынашиванию беременности. Одной из причин нарушения рецептивности эндометрия служит недостаточность лютеиновой фазы, который обусловлен, в свою очередь, гиперандрогенией, гипотиреозом, гиперпролактинемией [163]. Патология эмбриона конкурирует с нарушением рецептивности эндометрия как доминирующая причина неудачи имплантации [93].

Окно имплантации устанавливается во время средней лютеиновой фазы, что связано с явлением циклической децидуализации, то есть с remodelированием эндометрия с участием паракринных, эндокринных и аутокринных факторов. В результате создается подходящая для имплантации среда эндометрия, способствующая инвазии трофобласта в стенку матки и защищающая плод от иммунного отторжения материнским организмом. Этот процесс может нарушаться при эндометриозе, которому присуще нарушение локального иммунного равновесия клеток Th1/Th2, рекрутирования и созревания НК (натуральные киллеры полости матки) и др., а также нарушение функционирования сигнальных путей, сосудистые аномалии, изменение экспрессии генов [160, 221]. Клетки НК составляют 40% от общей популяции лейкоцитов в нормальной эндометрии, но их количество повышается до 60-70% к средней лютеиновой фазе во время имплантации. Активированные НК вырабатывают ангиогенные факторы (в т.ч. VEGF), которые определяют моделирование спиральных артерий и вызывают секрецию цитокинов. Последние формируют проинвазивную среду, оптимальную для имплантации трофобласта [93]. Нарушение регуляции цитокиновой сети может стать причиной рецидивирующей неудачи имплантации [192].

Нарушение регуляции метаболизма липидов может вносить свой вклад в патогенез бесплодия. Медиаторы, полученные из фосфолипидов, например эндоканнабиониды, лизофосфатидная кислота, сфингозин-1-фосфат, связаны с рецептивностью эндометрия, расстоянием между эмбрионами и децидуализацией.

Эстроген и прогестерон относятся к производным холестерина и опосредуют структурные и функциональные перестройки в матке перед имплантацией бластоцисты. Изменение профиля холестерина в сыворотке крови на протяжении менструального цикла указывает на потребность в стероидогенезе в период имплантации [240].

На возможность имплантации способны влиять некоторые гены. Так, при анализе содержания микроРНК в маточном секрете было обнаружено, что определенные микроРНК экспрессируются в эпителиальных клетках эндометрия, определяются во внеклеточных пузырьках эндометрия и связаны с его

рецептивностью и рецидивирующими неудачами имплантации. Гены-мишени для данных микроРНК экспрессировались как в трофобластических клетках эмбрионов на стадии бластоцисты, так и в среднесекреторных эпителиальных клетках эндометрия, их функционирование было необходимо для процесса имплантации [229].

Определение уровня экспрессии высокоподвижного группового бокс-белка 1 (HMGB1) в эндометрии продемонстрировало возрастание его продукции во время имплантации у женщин с повторными неудачами по сравнению с контрольной группой ($p = 0,001$) [126].

Фактором ухудшения рецептивности эндометрия может быть эндометриоз, который негативно воздействует на качество яйцеклетки и снижает ее потенциал к имплантации [109]. Важнейшими факторами, пагубно отражающимися на потенциале развития ооцитов и эмбрионов при эндометриозе, являются активные формы кислорода, дисрегуляция иммунной системы [206, 210]. Однако частота анеуплоидий у женщин с эндометриозом сопоставима с таковой у здоровых женщин [147, 213].

Экспрессия молекул клеточной адгезии является критичной для имплантации. Так, интегрин $\alpha\beta3$, критичный для имплантации, был снижен у женщин с бесплодием на фоне эндометриоза, а также при необъяснимом бесплодии. Он необходим для взаимодействия трофобласта с эпителием матки. Кроме того показано значение в имплантации молекул LIF (ингибирующий лейкемию фактор) и NOXA 10. Экзогенный LIF обеспечивал имплантацию, что указывает на растворимый эффект данного цитокина. Экспрессия NOXA 10 уменьшается при эндометриозе, но восстанавливается после его лечения [158, 162].

В настоящее время неясно, насколько сильно эндометриоз снижает эффективность ЭКО. В одном клиническом исследовании (328 женщин и 459 циклов переноса) не было обнаружено расхождений в результатах беременности у пациенток с эндометриозом и в контрольной группе [91]. В другой работе ($n=531$), напротив, на фоне контрольной группы (идиопатическое бесплодие) наличие эндометриоза у женщин приводило к уменьшению случаев живорождения на 24%,

что коррелировало с тяжестью заболевания [186]. В обзоре Paffoni A. et al. от 2024 года было показано, что у женщин с ооцитами доноров в ЭКО при наличии эндометриоза отношение шансов живорождения составило 0,89 (0,81-0,97) по сравнению с женщинами без эндометриоза [189].

В этой связи привлекательной может быть стратегия витрификации эмбрионов (яйцеклеток) до восстановления нормальной рецептивности эндометрия. На основании научно-практических исследований было доказано увеличение вероятности оплодотворения яйцеклетки женщин, у которых было такое заболевание, как эндометриоз, после переноса эмбрионов, которые прошли процедуру разморозки, (43%) в сравнении с группой пациенток (29,6%), в которой осуществляли перенос нативных эмбрионов [95]. Эти данные были подтверждены в следующем ретроспективном исследовании: в группе витрификации частота имплантации (34,4% vs 25,5%), клинической беременности (51,8% vs 38,8%) и живорождения (45,3% vs 31,8%) была выше, чем в группе с переносом свежих эмбрионов [232]. Предварительное преимплантационное генетическое тестирование с отбраковкой анеуплоидных эмбрионов позволяет улучшить показатели живорождений у женщин с эндометриозом [198]. Для подтверждения предварительных выводов, работу в указанном направлении необходимо продолжить.

Дисбактериоз женских половых путей может влиять на имплантацию. У пациенток с рецидивирующей имплантацией микробиота была обогащена грамположительными бактериями и наблюдалось повышенное число анаэробных бактерий (*Leptotrichia* spp., *Sneathia* spp.) по сравнению с контрольной группой (идиопатическое бесплодие) [193].

Есть мнение, что иммуномодуляция эндометрия после внутриматочной инсеминации активированными аутологичными мононуклеарами или обогащенной тромбоцитами плазмой может стать перспективным терапевтическим решением [89]. Так, после введения мононуклеаров, обработанных кортикотропин-рилизинг гормоном, и процедуры ВРТ с эмбриопереносом у 57,7% из 26 женщин с бесплодием была диагностирована клиническая беременность [177]. Другие

исследования подтверждают эффективность терапии аутологичными мононуклеарами [118, 196]. Терапия обогащенной тромбоцитами плазмой в клинических испытаниях увеличивала толщину эндометрия, улучшала течение беременности и ее исходы, однако эти выводы не всегда подтверждаются [102, 111, 112, 138, 164, 185, 209].

Удачная имплантация осуществима, если имеется восприимчивый эндометрий и хорошее взаимодействие между ним и эмбрионом [92, 122, 175, 228]. К настоящему моменту выяснено, что длительное воспаление повреждает как базальный, так и функциональный слой эндометрия. В развитии данной патологии играют большую роль иммунные изменения, особенно на уровне локального иммунитета. Иммунные отклонения эндометрия иногда могут быть непосредственной причиной бесплодия и самопроизвольных абортов. При хроническом эндометрите отмечаются морфофункциональные изменения, которые отражают выраженную активацию клеточных и гуморальных проявлений локального воспаления. Нарушение иммунной регуляции с повышением активности аутоиммунных процессов, сопровождается увеличением количества клеток CD16, NK и В-клеток в эндометрии. Эндометрий женщин с рецидивирующими нарушениями имплантации экспрессирует значительно меньшее число рецепторов к эстрогену бета, прогестерону и маркеру пролиферации Ki-67. Это указывает на недостаточное взаимодействие эндометрия с половыми гормонами и сопровождается снижением его пролиферации [80]. В матке мутантных мышей (с дефицитом Mettl14) нарушалась передача сигналов рецептора эстрогена альфа (при интактности прогестероновых рецепторов), что приводило к нарушению имплантации эмбриона [153]. Тоже наблюдается и при нарушении ответа прогестероновых рецепторов [239]. Мутации в генах рецепторов половых гормонов могут влиять на их экспрессию [223].

В одном из исследований [9], с участием 20 женщин, госпитализированных с целью проведения повторного ЭКО после предыдущих неудач вспомогательных репродуктивных технологий, у 8 пациенток было диагностировано первичное бесплодие, у 12 – вторичное. У женщин отмечался отягощенный гинекологический

анамнез и ряд сопутствующих патологий. Анализируя данные иммуногистохимии (ИГХ), были обнаружены признаки хронического аутоиммунного эндометрита, а также ХЭ без аутоиммунной реакции. Анализ на рецепторы эндометрия показал уменьшение концентрации эстрогеновых рецепторов и в пролиферативной, и в секреторной стадиях – в железистом эпителии, а в стромальном эпителии – только в стадии секреции. Кроме того, было обнаружено снижение выраженности экспрессии прогестероновых рецепторов в стромальном и железистом эпителии в стадии секреции. После установления окончательного диагноза ХЭ, 19 пациенткам было проведено патогенетическое лечение и у 8 из них была зафиксирована беременность.

На основании приведенных примеров можно резюмировать, что применение комплексной диагностики у пациенток с бесплодием в позднем репродуктивном возрасте следует рекомендовать сделать обязательным перед проведением дальнейших этапов программ ВРТ. Необходимым методом обследования должна быть ИГХ, которая дает возможность оценить статус эндометрия [9].

Также необходимо обратить внимание на публикацию [8], в которой сообщается об исследовании 41 образца эндометрия. Авторы проводили ИГХ исследование с определением параметров: PgR (прогестероновые рецепторы), ER (эстрогеновые рецепторы), пропорция Pg/ER, LIF (ингибирующий лейкемию фактор), CD56, CD138. Все биоптаты поделили на 2 группы: I группа (27 человек) – женщины, прошедшие программу ЭКО, но не забеременевшие, II группа (14 человек) – у этих женщин эмбрионы направлялись на криоконсервацию и им назначали циклическую гормональную терапию: 6–7 мг эстрадиола со 2 дня цикла, 400–600 мг утрожестана с 12–14 дня. Забор биопсийного материала выполняли на 6–7 день применения прогестерона. Определяли толщину эндометрия, концентрацию эстрадиола (E2) и прогестерона (P) в плазме крови. Нормальная картина эндометрия определялась только у 4,9% женщин I группы и столько же у II-й, а ХЭ обнаружен у половины всех пациенток (48,8%). У четверти из них воспаление отсутствовало. У трети пациенток картина не соответствовала фазе менструального цикла.

В итоге, важнейшим фактором, который обеспечивает беременность, является качество эмбриона, который переносят в полость матки, а также его способность имплантироваться [104, 123, 146, 173]. Учитывая все вышеописанное, кажется неоправданным поиск отклонений в нормальной эндометрии. Приведенные примеры – это только предварительные факты и выводы. Объединение усилий медицинских специалистов даст возможность доказать эффективность описанных методов с помощью рандомизации пациенток, создания контрольной группы и увеличения перечня исследований.

1.6 Процедуры ВРТ в лечении женского бесплодия

Впервые удачный процесс экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) был осуществлен в 1978 году в Англии у женщины с не стимулированным менструальным циклом (МЦ): при этом специалисты выполнили лапароскопическое извлечение одного ооцита из яичника. Затем яйцеклетку оплодотворили *in vitro* и перенесли на стадии эмбриона в матку. С тех пор метод ЭКО стал стремительно развиваться и распространяться по всему миру [142].

Тем не менее, риск неудачи при проведении процедур ВРТ всегда выше, чем шанс на успех в любом возрастном диапазоне. Существует проблема гипердиагностики нарушения рецептивности эндометрия. В одном исследовании частота наступления клинической беременности в первом, втором и третьем циклах ЭКО составила 52%, 41% и 28%, а расчетная частота гипердиагностики нарушения имплантации после двух, трех и шести неудачных циклов равнялась 46%, 25% и 2% соответственно [98].

Для избежания гипердиагностики случаев рецидивирующей неудачи имплантации предложено три статистических подхода:

– вероятностная модель, основанная на оценке шансов на успех в каждом цикле, предлагает для определения три неудачных цикла ВРТ у женщин моложе 40 лет;

– второй подход предполагает индивидуальный диагноз с учетом множества

факторов;

– третий подход также основан на индивидуализации, но в основном базируется на показателях эуплоидии и женском возрастном диапазоне [214].

Все эти подходы не безупречны и сохраняется потребность в четком формулировании термина «рецидивирующая неудача имплантации».

Индивидуальный подход к диагнозу «рецидивирующая неудача имплантации» (РНИ) предлагает в основном два метода. В первом методе вводилось понятие «теоретическая кумулятивная степень имплантации» (ТКСИ). Например, у женщины диагнозу РНИ соответствует ТКСИ более 0,80 [203]. Вторая модель основана на мнении, что анеуплоидия эмбриона является наиболее частой причиной неудач. Таким образом, РНИ может быть диагностирована после безуспешного переноса достаточного количества эуплоидных эмбрионов, при которой кумулятивная ожидаемая вероятность имплантации превысит 95% [82].

На настоящий момент опубликовано недостаточно работ, посвященных вопросам ЭКО в возрасте поздней фертильности. По этой причине тормозится поиск наиболее оптимальных стратегий по повышению эффективности ЭКО у немолодых женщин, и это позволяет признать дальнейший поиск путей совершенствования программ ЭКО несомненно актуальным. В то же время исследователи считают, что достижение этой цели должно быть реализовано через разработку наиболее удачных схем прекоцепционной подготовки у женщин в позднем детородном возрасте.

«Окно имплантации» и «рецептивность эндометрия» – это термины, которые сегодня широко используются в медицинской практике, для обозначения важных факторов в репродукции [8]. Отметим, что в настоящее время реализуется ряд научно-практических исследований с целью выявления показателей, на основе которых можно судить о факте наступления беременности и прогнозировать ее успешный исход. Помимо диагностики толщины эндометрия (в качестве рецептивного фактора) и выполнения доплерометрии, производится исследование на наличие рецепторов, восприимчивых к эстрогену, прогестерону, удельного отношения рецепторов, экспрессии LIF и некоторых других маркеров, а

также определяется количество пиноподий. Сегодня все еще сложно дать клинико-морфологическую характеристику хронического эндометрита (ХЭ). Непонятна его распространенность у женщин, участвующих в программе ЭКО, а также его удельный вес в общем объеме неудач ВРТ. Одни исследователи утверждают, что распространенность ХЭ у пациенток с бесплодием равняется 6-10%, а другие настаивают на том, что 95% женщин с бесплодием страдают ХЭ [8]. Практика врача-репродуктолога требует своевременной оценки рецептивности эндометрия, с минимизацией случаев гипердиагностики и неправильной диагностики.

Стоит также отметить, что, по последним сообщениям, эффективность методов ВРТ не превосходит уровень в 40% (при лечении 5-летняя эффективность достигает 53%), что приводит к дальнейшему включению не менее 60% указанных женщин в следующие программы ЭКО/ИКСИ [45, 228]. Необходимо отметить, что расчетная эффективность программы ВРТ для женщин, находящихся в позднем детородном возрасте, составляет порядка 10%, и каждый год для женщины старше 30-летнего возраста уменьшает вероятность забеременеть на 4,7% [24]. Для беременных женщин в периоде поздней фертильности характерны увеличенные риски возникновения осложнений. В группе женщин от 38 до 42 лет, проходящих процедуру ЭКО, наблюдались повышенные риски гипертензии (скорректированное отношение шансов (OR), (OR=1,31, 95% ДИ 1,06–1,62), гестационного диабета (OR=1,26, 95%ДИ 1,13–1,41), преждевременных родов (OR =1,45, 95% ДИ 1,16–1,81), кесарева сечения (OR=1,84, 95% ДИ 1,55– 2,19), послеродового кровотечения (OR= 1,68, 95% ДИ 1,27–2,24) и инфекций послеродового периода (OR=1,90 95% ДИ 1,31–2,77) по сравнению с женщинами до 38 лет, которым проводилось ЭКО [85]. Совершенствование лечения бесплодия с применением программ ВРТ подразумевает протоколы стимуляции овуляции и аспирации ооцитов, ведение эмбрионов *in vitro*, их перенос в матку. Несмотря на это, продолжают дискуссии о моменте начала повторных процедур ВРТ после прежде неуспешных программ.

Временной промежуток между двумя попытками ВРТ, в случае неудачи предыдущих попыток, отчасти определяет успех проводимых процедур. Скорее

всего, после предшествующей попытки следует пропустить не менее 2-х менструальных циклов. Наиболее обоснованным является промежуток в 2-5 месяцев после последней неудавшейся процедуры [62].

Для женщин в периоде поздней фертильности характерна повышенная частота назначения комбинированных препаратов ФСГ/ЛГ, повышение общей дозы гонадотропинов, а также более частое применение хорионического гонадотропина как стимулятора овуляции. Проведение процедур ЭКО у женщин старше 37 лет характеризуется снижением числа полученных качественных ооцитов и эмбрионов. Вероятность достижения клинической беременности после процедуры ЭКО у пациенток моложе 37 лет в 2,8 раз выше, чем у женщин в старшей возрастной группе. Клинический эксперимент, обобщивший данные по 343 супружеским парам с разнообразными причинами бесплодия [24], показал, что женщины в позднем репродуктивном периоде характеризуются повышенным индексом массы тела (ИМТ) ($p=0,0012$) и высокой частотой диагностики миомы матки ($p<0,0001$), если сравнивать их с более молодыми женщинами. Изучение акушерских данных показывает повышенную продолжительность инфертильности в группе I (пациентки в возрасте 37 лет или старше) в сравнении с женщинами из второй группы (пациентки младше 37 лет) ($6,6\pm 4,7$ лет и $5,5\pm 3,6$ лет соответственно, $p=0,0147$). В то же время диагностика вторичного бесплодия была в 1,7 раз чаще среди женщин позднего репродуктивного возраста ($p<0,0001$). Женщинам <37 лет обычно назначали препараты рекомбинантного ФСГ (60,4%), процент женщин, которым назначали комбинированные препараты ФСГ в сочетании с ЛГ был повышен у пациенток > 37 лет (57,3%) ($p<0,0001$). Средняя накопительная, общая доза гонадотропинов была повышена у женщин первой группы ($p<0,0001$). Назначение агониста гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) как индуктора овуляции чаще осуществлялось во второй группе по сравнению с первой (17,9% и 4,9% соответственно). При определении показателей фолликулогенеза и оогенеза отмечено, что среднее число фолликулов, ооцитов, а также зрелых ооцитов в расчете на 1 пациентку было достоверно снижено в группе > 37 лет ($p<0,0001$). Патологические отклонения ооцитов определялись у 58 женщин (56,3%) в первой

группе и у 80 пациенток (33,3%) во второй ($p < 0,0001$). Количество качественных эмбрионов было повышено в контрольной группе и составило в среднем $4,4 \pm 3,1$ в сравнении с $3,2 \pm 2,3$ в первой группе ($p = 0,0006$). В первой группе 22 женщины забеременели (21,4%), во второй группе беременность была диагностирована у 103 пациенток (42,9%) ($p = 0,0001$). Отношение шансов достижения беременности равнялось 2,8 (90% ДИ 1,71; 4,53). Как и все медицинские технологии, ВРТ сопровождается некоторыми рисками и осложнениями. Однако за последние 30 лет успехи этой технологии несомненны, доказательством чему является значительное число дополнительных беременностей [78, 176, 247]. Однако данное явление неразрывно связано с определенными опасностями и осложнениями. Большинство опубликованных результатов исследований демонстрирует, что в возрасте поздней фертильности резко увеличивается число осложнений для беременной женщины, плода и ребенка [113, 124, 152, 154, 165, 197]. Так, в недавней публикации было показано, что количество неблагоприятных неонатальных событий и осложнений беременности коррелировало с возрастом пациенток и ИМТ, измеренным до беременности [83].

Необходимым условием проведения ЭКО у женщин, находящихся в позднем детородном возрасте, является выбор схемы стимуляции, которая должна принимать во внимание возрастное снижение качества фолликулов повышенной частоты «бедного ответа». Бывает затруднительно выбрать оптимальный протокол – с агонистами или антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ, антГнРГ). Назначение аГнРГ в длинном протоколе, помимо контроля цикла и перспективы получения достаточного количества качественных яйцеклеток, увеличивает время протокола, сумму лечения, а также частоту появления синдрома гиперстимуляции овуляции. По этой причине в циклах ВРТ женщинам стараются предписывать короткие протоколы с антГнРГ или короткие схемы с аГнРГ.

Проведение стимуляции яичников в процедурах ВРТ у женщин > 40 лет должно сопровождаться оценкой фолликулярного потенциала для того, чтобы определить репродуктивные возможности, включая беременность за счет собственных яйцеклеток женщины. Кулешова Д.А. и соавт. (2017) [38] указывают,

что применение протоколов длительной стимуляции овуляции приводит к удорожанию процедуры в то время, как короткие схемы с агонистами дают возможность получить значительное количество качественных яйцеклеток. Существует несколько моментов (индукция овуляции, пункция, наступившая беременность) в процедурах ВРТ, которые могут привести к осложнениям.

Синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) считается типичным осложнением, возникающим при стимуляции яичников в программе ЭКО. Симптомы СГЯ клинически варьируют очень широко, включая тяжелые формы.

В публикации Кравцова О. А. (2017) [34] отмечено, что значимое воздействие на формирование СГЯ в протоколах ЭКО оказывают анемия, хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, астено-невротический синдром, хронический тонзиллит. Из гинекологических заболеваний наиболее критичными считаются сальпингит и оофорит, дисфункция яичников, тазовые перитонеальные спайки, воспалительные болезни матки и эндометриоз.

Многоплодие – обычное явление для процедур ЭКО, поскольку для повышения надежности осуществляется трансфер нескольких эмбрионов в матку.

Пути решения:

- трансфер только одного эмбриона;
- для селекции наиболее качественного эмбриона проводят предимплантационное генетическое тестирование (ПГТ);
- редукция большинства эмбрионов (кроме одного-двух) по результатам исследований УЗИ.

Большинство печатных работ на данную тему показали, что вероятность самопроизвольного прерывания беременности после выполнения программы ЭКО/ИКСИ соответствует таковой для популяции в целом. Метод ИКСИ статистически достоверно не изменяет вероятность вынашивания беременности при сравнении с общей женской популяцией. В недавней статье Meyer R. et al. (2018) анализировали данные по беременностям у женщин позднего репродуктивного возраста с 2011 по 2018 годы [180]. Осложнения беременности у пациенток в позднем детородном периоде с многоплодной беременностью

наблюдались с повышенной частотой по сравнению с молодыми женщинами (<35 лет). Женщины пятого и шестого десятилетий с двойней имели повышенные риски частоты кесарева сечения (91,8% против 56,4%, $p<0,001$), гестационной гипертензии, преэклампсии и гестационного сахарного диабета (10,3 % против 4,2%, $p=0,016$; 32,0% против 6,2%, $p<0,001$; 35,1% против 8,1%, $p<0,001$ соответственно), чем младшая группа.

Частота диагностики эктопической беременности при проведении процедур ВРТ превышает таковую для всей женской популяции и может достигать 5%. Намечены следующие пути уменьшения указанных рисков:

- селективный перенос только одного эмбриона в полость матки;
- ПГТ для селекции наиболее качественного эмбриона;
- корректировка схемы индукции овуляции за счет применения антиэстрогенов;
- непрерывный мониторинг женского здоровья для пациенток, перенесших ЭКО, а также своевременное выявление на аппарате УЗИ внематочной формы беременности.

Не так часто встречается ситуация, когда придатки матки могут быть перекручены. Такое состояние определяется в 1 из 5 000 случаев. В процессе проведения трансвагинальной пункции фолликулов (ТВП) необходимо внимательно контролировать риски кровотечений и травм женских половых органов и мочевыделительной системы. При выполнении процедуры ТВП следует четко соблюдать технический регламент данной процедуры, включающий УЗИ контроль с доплеровским картированием (визуализация сосудов), высокую квалификацию исполнителя, хороший визуальный контроль положения иглы на мониторе.

Все методы терапии, существующие на сегодняшний день, несут в себе определенные риски, негативные осложнения и их последствия. Не является исключением и терапия бесплодия с использованием протоколов ЭКО. Кроме описанных выше случаев, существует еще множество проблем, с которыми

сталкиваются пары, решающиеся на прохождение процедур ВРТ. Психологический статус таких бесплодных пар нуждается в коррекции, а иногда в продолжительном лечении, поскольку сопровождается эмоциональными срывами и нарушением адаптации. Изучение данного вопроса очень актуально. Необходимо помнить, что психотерапевтические программы позволяют уменьшить уровень тревоги и стресса у женщин, проходящих программу ЭКО [203].

Тимченко Д. Д. и соавт. (2024) обнаружили у женщин в старшем фертильном возрасте с бесплодием высокую частоту психологического неблагополучия. Основным нарушением была повышенная частота тревожности (ситуационной и личностной), а также большая распространенность депрессии. Отмечались значительные проблемы с социальной адаптацией, что также выражалось депрессией и высоким показателем тревоги [66]. Схожие данные были получены Гардановой Ж. Р. и соавт. (2024) [46]. Тем не менее, влияние стресса на исходы ЭКО не было доказано.

На основании указанных публикаций можно прийти к выводу о необходимости комплексной стратегии в терапии и диагностике у женщин в старшем детородном возрасте с использованием психокорректирующих техник.

Хотя предпринимаются методы профилактики при ЭКО, частота многоплодной беременности остается высокой. Многие публикации говорят о том, что частота многоплодных родов в Европе достигает 19,2%, а в США – 26,6%. Девяносто пять процентов многоплодных родов заканчивались рождением двойняшек. По сравнению с одноплодными родами, многоплодные (после ЭКО) чаще дают материнскую и раннюю детскую смертность. Самый актуальный способ решения данной проблемы – редуцировать большую часть эмбрионов. В странах Скандинавии (в том числе в Швеции) основной стратегией является перенос только одного эмбриона (наиболее качественного) в полость матки: это позволило снизить число многоплодных беременностей с 26% до 5-6% при стабильном количестве родов. В то же время тенденция к переносу 1 эмбриона возросла с 10% до 70-80%: такое соотношение стабилизировалось в последние несколько лет. При переносах витрифицированных и размороженных эмбрионов указанная тенденция

реализуется в 85% случаев.

В России число многоплодных беременностей, развившихся в результате ЭКО, достигает 45,4% [3]. Также стоит обратить внимание на исследование Рудаковой Е. Б. и соавт. (2017) [59], которые продемонстрировали сравнительную характеристику результатов базовых программ ЭКО и переноса эмбрионов с донорскими ооцитами у женщин позднего репродуктивного периода с предполагаемой бедной реакцией со сниженным овариальным пулом. При выполнении сложных процедур ЭКО осуществлялся перенос двух эмбрионов. Один из эмбрионов был с использованием донорских ооцитов, оплодотворенный спермой партнера, а другой получен при оплодотворении собственных яйцеклеток женщины, оплодотворенных спермой мужа (партнера). В указанных программах выполняли трансфер эмбрионов высокого качества. Если собственные эмбрионы получить не удавалось, оба переносимых эмбриона получали из донорских яйцеклеток, оплодотворенных спермой мужа. За период исследования эффективность основных программ ЭКО и программ с использованием донорских ооцитов составила 11,6%, а комплексных программ в 2016 году – 21,6%. Эффективность комплексных программ примерно соответствовала эффективности программ у женщин старше 35 лет и составляла 38,4%. Таким образом, авторами был сделан вывод, что использование комплексных процедур ЭКО и программ с использованием донорских ооцитов у женщин старше 38 лет заметно повышает их результативность. В некоторых случаях было установлено, что перенос донорских эмбрионов, оплодотворенных спермой партнера, улучшает перенос и имплантацию собственных эмбрионов независимо от их качества [59]. Однако эти данные нуждаются в продолжении исследования.

Стоит обратить внимание на то, что демографическая картина последних лет отличается значительным старением населения, снижением числа женщин фертильного возраста [195, 238]. В то же время каждый год отмечается увеличение доли женщин старшего репродуктивного возраста, страдающих бесплодием [31, 67, 156, 220], которые прибегают к помощи репродуктолога в клиниках ВРТ. По этой причине повышается актуальность введения в практику системы медико-

организационных мероприятий, направленных на улучшение здоровья женщин из старшей возрастной группы и терапию бесплодия [1]. Для повышения эффективности медицинского вмешательства на базе клиник ВРТ следует обеспечить следующие мероприятия [195]:

1. Увеличение списка исследований перед проведением процедуры ЭКО – в целях диагностики и лечения гематологических и гормональных патологий, ухудшающих исходы беременности:

- консультации смежных специалистов (гематолог, эндокринолог);
- обеспечение персонифицированного стандарта лечения, осуществляя ЭКО в контексте схемы маршрутизации в ходе терапевтической подготовки женщин в возрасте поздней фертильности;
- классификация пациентки в соответствии с группой здоровья, консультации у врача-генетика;
- терапия с применением основных методов ВРТ у женщин, находящихся в позднем репродуктивном периоде, I и II группы здоровья;
- терапия пациенток из III группы здоровья с применением недавних медицинских инноваций при положительном вердикте врачей, в котором решающее слово остается за медицинским генетиком (ПГТ, программы аккумуляции яйцеклеток и эмбрионов, список доноров, криобанк для пациенток с бедным овариальным ответом).

2. Применение новейших медицинских нововведений (ПГТ, создание банков яйцеклеток и эмбрионов, регистра доноров, криобанк, нормализация вагинального микробного состава перед ВРТ с назначением новейших медикаментов).

Как отмечает Краснопольская К. В. и соавт. (2022), следует принимать во внимание повышенный риск рождения больного потомства у пациенток в позднем репродуктивном периоде из-за опасности развития дегенеративных процессов и анеуплоидии. Практика применения донорских ооцитов в программе ЭКО может быть выходом из данного затруднения [36].

Примечательно исследование Буданова М. А. и соавт. (2021), в котором авторы отмечают, что у пациенток в позднем репродуктивном периоде с

бесплодием, планирующих ЭКО, имеется выраженный дефицит витамина Д. Эта публикация позволяет обосновать назначение витамина Д в комплексе подготовки женщин к гестации, вне зависимости от планирования протокола ЭКО [13].

Изложенное выше показывает, что проблема установления правильного диагноза и терапии бесплодия у женщин, находящихся в позднем фертильном возрасте, по-прежнему остается очень острой, даже при учете очевидных успехов репродуктологии. Неблагоприятная демографическая обстановка в нашей стране диктует необходимость адаптации вспомогательных репродуктивных технологий в практику отечественной медицины.

Быстрое совершенствование технологий и адаптация недавно разработанных препаратов и методик (ИКСИ, хэтчинг, эмбриокультивирование до этапа бластоцисты, замораживание эмбрионов хорошего качества, ПГТ, использование донорских яйцеклеток, эякулята) способствовали тому, что сегодня уже почти нет патологии, при которой возможность забеременеть и родить здоровое потомство была равна нулю. Тем не менее, эффективность всех указанных технологий резко падает у женщин старше 35 лет.

В этой связи повышается актуальность вопроса оптимизации вспомогательных репродуктивных технологий у женщин с бесплодием, находящихся в позднем возрасте репродукции.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

Проведено когортное поэтапное исследование в 2017-2023 годах на базах клиник «Эмбрио-Сочи» г. Сочи, «Эмбрио» г. Краснодара и Клиники ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

На первом ретроспективном этапе исследования с 2017 по 2019 годы была изучена медицинская документация 180 пациенток, прошедших через процедуры ЭКО. Анализировался анамнез (соматический, гинекологический и акушерский), данные клинико-лабораторного обследования, УЗИ с оценкой фолликулярного резерва, гормональный фон, лабораторные данные ИГХ исследования эндометрия. Все результаты оценивались по группам в соответствии с возрастом: поздний репродуктивный возраст - ≥ 35 лет (I группа) 90 человек и репродуктивный возраст < 35 лет (II группа) 90 человек. Проанализированы причины бесплодия, оценена эффективность этапов ЭКО, а также возможные причины неудачных попыток ЭКО.

На втором, проспективном, этапе исследования в условиях тех же лечебных учреждений за период 2019-2023 годы обследованы 302 пациентки с первичным бесплодием (1 (основная) группа), возрастом не менее 35 лет, которым первично был поставлен диагноз «бесплодие» не позднее, чем за 4 года от текущего момента времени, имеющие положительный гинекологический и акушерский анамнез, проходившие процедуру ЭКО с отрицательным результатом. Запоздалое желание иметь детей в этой группе было обусловлено одной или несколькими причинами: построение карьеры, личное нежелание иметь детей, отсутствие полового партнера, неудачный ранний брак и другие причины.

Кроме того, был проведен отбор 50 здоровых женщин, в репродуктивном возрасте 25-34 лет (2 группа - контрольная), которые наблюдались в клиниках в рамках программы суррогатного материнства. Лабораторным контролем для

определения нормальных значений супероксиддисмутазы, малонового диальдегида и мелатонина фолликулярной жидкости, послужило содержание фолликулов от здоровых женщин репродуктивного возраста, наблюдавшихся по программе донорства ооцитов (лабораторный контроль, n=50).

Определение иммунологических и лабораторных показателей велось на кафедре клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и лаборатории клиники ИНВИТРО г. Краснодар.

Каждая женщина, включенная в исследовательскую группу, давала свое согласие на проведение сбора и обработки ее данных, анализа показателей, связанных с репродуктивной сферой, согласия оформлялись в соответствии со стандартами НЭК ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол №57 от 29 ноября 2017 г.). Дизайн исследования представлен на рисунке 2.1.

Критерии включения в проспективный этап исследования:

- 1) отсутствие противопоказаний и ограничений к применению вспомогательных репродуктивных технологий согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020 г. № 803н;
- 2) возраст 35-45 лет (основная группа), 18-34 года (контрольная группа);
- 3) наличие диагноза «первичное бесплодие»;
- 4) неудачная попытка ЭКО в анамнезе;
- 5) сохраненный менструальный цикл;
- 6) отсутствие отягощенного акушерского и гинекологического анамнеза;
- 7) отсутствие острых и хронических соматических заболеваний средней и тяжелой степени;
- 8) фертильная сперма партнера;
- 9) согласие на обработку данных и манипуляции, оформленное в письменном виде.

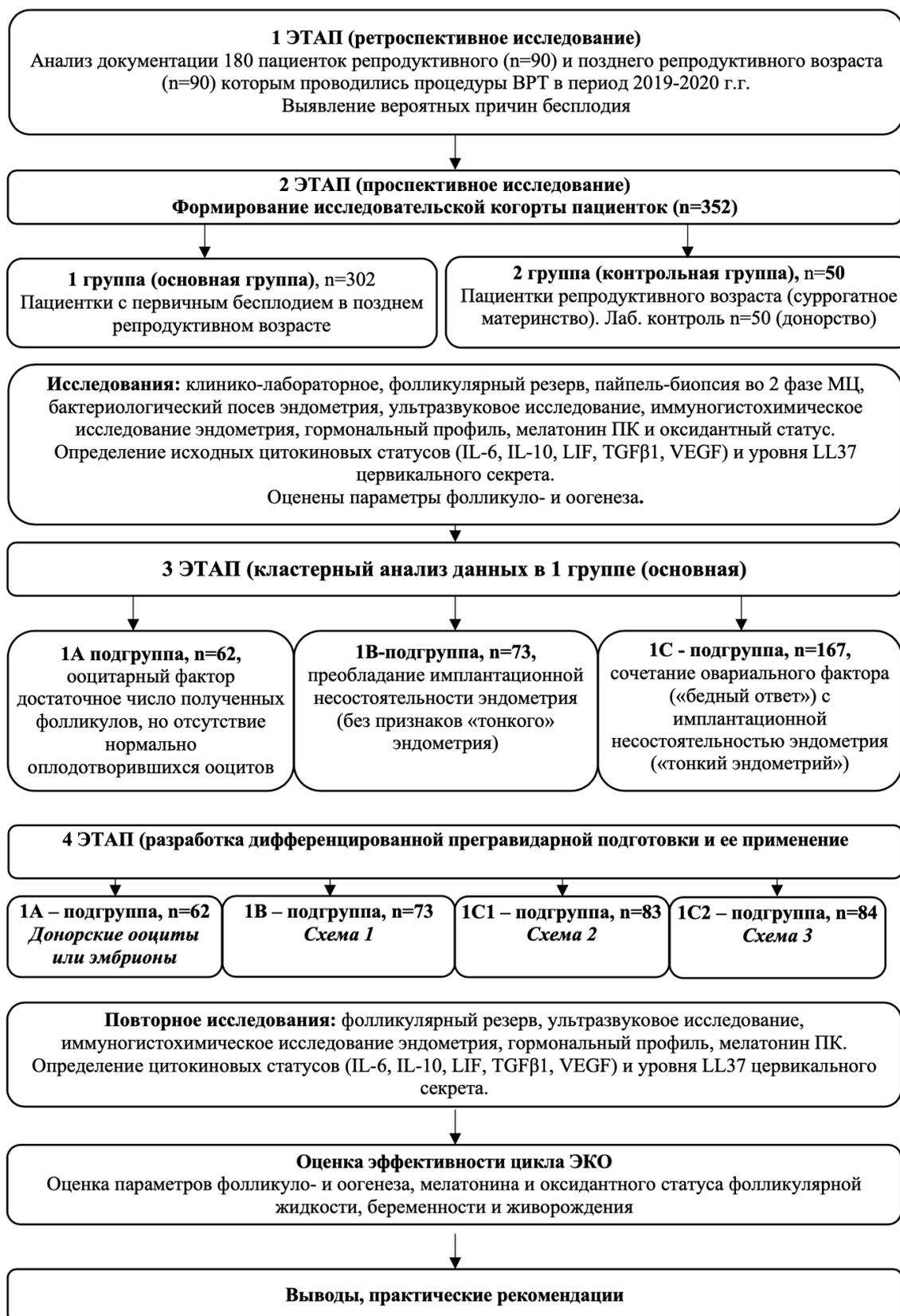


Рисунок 2.1 – Дизайн исследования

Критерии не включения в проспективный этап исследования:

- 1) противопоказания и ограничения к применению вспомогательных

репродуктивных технологий согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020 г. № 803н;

- 2) наличие гиперпластических процессов эндометрия;
- 3) наружный генитальный эндометриоз и аденомиоз;
- 4) миома матки;
- 5) острый и хронический метроэндометрит и сальпингоофорит в анамнезе;
- 6) мужской фактор бесплодия;
- 7) изменения в кариотипе супругов.

После формирования соответствующей когорты пациенток, проведена оценка процессов фолликуло- и оогенеза: общее количество фолликулов, общее количество аспирированных ооцитов, среднее число ооцитов МП, количество незрелых ооцитов, среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов (2PN), среднее число бластоцист на пациентку, среднее число бластоцист отличного/хорошего качества в ходе первой неудачной попытки ЭКО.

В процессе исследования изучены параметры гормонального статуса, фолликулярного резерва, был проведен расчет значения провоспалительного индекса (ПВИ), как отношение значения IL6 к значению IL10, и соотношения уровней трансформирующего фактора роста бета и эндотелиального фактора роста сосудов (TGF β 1/VEGF). Определяли уровень мелатонина в плазме крови и фолликулярной жидкости. В секреторную фазу менструального цикла проводилась пайпель-биопсия эндометрия (19-24 день МЦ) с морфологическим и ИГХ анализом биоптата эндометрия. Определялись критерии наличия хронического эндометрита: CD56+, CD138+, HLA-DR и характеристики рецепторного статуса (ER, PR и LIF). Проводилось изолированное микробиологическое исследование полости матки с помощью зонда, разработанного на кафедре акушерства, гинекологии и перинатологии №1 ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (RU 2799581C1). По результатам исследования микрофлоры эндометрия определялись вид, титры и частота выявления патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в эндометрии.

Проводилось ультразвуковое исследование матки и придатков по фазам

менструального цикла с проведением доплерометрического картирования и измерением индексов кровотока в маточной артерии (19-24 день МЦ).

На следующем этапе произведен разведочный и детальный анализ первичных данных и основная процедура кластеризации, которая позволила выделить три различных этиопатогенетических варианта формирования бесплодия. В связи с чем, пациентки 1 (основной) клинической группы были разделены 3 подгруппы: 1А-подгруппа (62 пациентки) – в структуре бесплодия доминировал ооцитарный фактор (достаточное число полученных фолликулов и яйцеклеток, но отсутствие нормально оплодотворившихся ооцитов); 1В- подгруппа (73 пациентки) – преобладание имплантационной несостоятельности эндометрия (без признаков «тонкого» эндометрия); 1С – подгруппа (167 женщин) сочетание овариального фактора («бедный ответ») с имплантационной несостоятельностью эндометрия («тонкий эндометрий»).

На третьем этапе была разработана и выполнена патогенетически обоснованная персонифицированная прегравидарная подготовка, в зависимости от ведущего фактора infertility (схемы представлены ниже). Поскольку у пациенток 1С-подгруппы впервые обнаружена эпифизарная дисфункция, определяемая сниженным уровнем мелатонина, им предложена прегравидарная терапия с включением препарата эпифиза, стимулирующего выработку мелатонина. Для оценки сравнительной эффективности предложенной терапии произведено рандомизированное деление пациенток 1С-подгруппы на дополнительные две подгруппы: 1С1-подгруппа (83 женщины) – стандартный прегравидарный эстроген-гестагенный прайминг и 1С2-подгруппа (84 женщины) – применение препарата эпифиза, стимулирующего выработку мелатонина в сочетании с эстроген-гестагенным праймингом.

После проведения прегравидарной подготовки (3 месяца) вновь оценены параметры фолликулярного резерва, гормональный, цитокиновый и мелатониновый статус и предпринята очередная попытка ЭКО.

В ходе второй попытки ЭКО оценены процессы фолликуло- и оогенеза: общее количество фолликулов и аспирированных ооцитов, среднее число ооцитов

МЦ, количество незрелых ооцитов, среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов (2PN), среднее число бластоцист на пациентку, среднее число бластоцист отличного или хорошего качества. Вторая попытка ЭКО была проведена в режиме криопротокола. Проведена оценка эффективности ЭКО после проведения персонифицированной прегравидарной подготовки.

Схемы прегравидарной подготовки (терапии):

Помимо стандартной прегравидарной подготовки регламентированной приказом Министерства здравоохранения РФ от 20 октября 2020 г. N 1130н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология", приказом Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020 г. № 803н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению" и клиническими рекомендациями «Нормальная беременность» (2023 г.) пациенткам в зависимости от основного выявленного патогенетического механизма infertility проводилась персонифицированная прегравидарная подготовка по следующим схемам:

Схема 1 (пациентки 1В-подгруппы).

На 1 этапе проводилась этиотропная терапия (антибиотики широкого спектра действия и/или противовирусные препараты). Параллельно с 5 дня лечения использовалась низкочастотная ультразвуковая кавитация с использованием водного раствора хлоргексидина 0,05% – 10 процедур с интервалом в 1 день. Параллельно применялся бовгиалуронидаза азоксимер 3000 МЕ, растворенный в 2 мл раствора прокаина (0,5%) в/м 1 раз в 3 дня курсом 10 инъекций внутримышечно.

На 2 этапе с 3-го МЦ для восстановления рецепторной чувствительности эндометрия в качестве циклической гормональной терапии (ЦГТ) применялся эстроген-гестагенный прайминг (эстрадиол-гель трансдермально 2 мг с 1-го по 25-й день МЦ и микронизированный прогестерон с 16-го по 25-й день МЦ по 400 мг ежедневно интравагинально в течении 3 циклов до цикла стимуляции), после чего начинали цикл стимуляции суперовуляции.

Схема 2 (пациентки 1С1-подгруппы).

На 1 этапе при обнаружении патогенной микрофлоры в эндометрии,

проводилась этиотропная терапия (антибиотики широкого спектра действия, и/или противовирусные препараты). Параллельно с 5 дня лечения использовалась низкочастотная ультразвуковая кавитация водным раствором хлоргексидина 0,05% – 10 процедур с интервалом в 1 день. Вне зависимости от наличия или отсутствия патогенной микрофлоры в эндометрии использовался бовгиалуронидаза азоксимер 3000 МЕ в/м 1 раз в 3 дня курсом 10 инъекций с дальнейшим введением 3000 МЕ бовгиалуронидаза азоксимера интравагинально по 1 суппозиторию через 2 дня – 10 введений.

На 2 этапе – эстроген-гестагенный прайминг (эстрадиол-гель трансдермально 2 мг с 1-го по 25-й день МЦ и микронизированный прогестерон с 16-го по 25-й день МЦ по 400 мг ежедневно интравагинально в течение 3 циклов до цикла стимуляции.

Схема 3 (пациентки 1С2-подгруппы).

На 1 этапе в случае обнаружения патогенной микрофлоры в эндометрии проводился курс, включающий этиотропную терапию (антибиотики и/или противовирусные препараты). Параллельно с 5 дня лечения использовалась низкочастотная ультразвуковая кавитация водным раствором хлоргексидина – 0,05% 10 процедур с интервалом в 1 день. Вне зависимости от наличия или отсутствия патогенной микрофлоры в эндометрии использовался бовгиалуронидаза азоксимер 3000 МЕ в/м 1 раз в 3 дня курсом 10 инъекций с дальнейшим введением 3000 МЕ бовгиалуронидаза азоксимер интравагинально по 1 суппозиторию через 2 дня – 10 введений.

На 2 этапе – эстроген-гестагенный прайминг (эстрадиол-гель трансдермально 2 мг с 1-го по 25-й день МЦ и микронизированный прогестерон с 16-го по 25-й день МЦ по 400 мг ежедневно интравагинально в течение 3 циклов до цикла стимуляции и в/м введение низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций эпифиза – ежедневно в дозе 10 мг в течение 10 дней с 5 по 15 день МЦ, предшествующего стимуляционному циклу.

Протокол стимуляции суперовуляции, реализуемой в рамках ЭКО

Протокол № 1: протоколом для женщин, которые были включены в исследовательский проект, выступил протокол суперовуляции, которая

предусматривала введение рекомбинантного ФСГ человека (сокращенно – р-чФСГ) (или гонал-Ф). Начальная дозировка препарата равнялась 225 МЕ. Далее, с 7 по 12 день, для того, чтобы подавить секрецию эндогенных гонадотропинов, был добавлен антагонист рецепторов ГнРГ (или Оргалутран). В виде триггера овуляции был применен рекомбинантный хорионический гонадотропин (или Овитрель), при этом данный препарат вводился единовременно в размере 250 мкг.

Протокол № 2: протоколом для женщин, имеющих пониженный уровень фолликулярного резерва, выступил протокол суперовуляции с начальным параллельным введением рекомбинантного ФСГ человека (сокращенно – р-чФСГ) (или гонал-Ф) в дозировке 225 МЕ и менопаузного гонадотропина человека (или Менопур) в дозе 75 МЕ с 7 по 12 день стимулирования, для того чтобы обеспечить подавление секреции эндогенных гонадотропинов, был добавлен антагонист рецепторов ГнРГ (или Оргалутран). В виде триггера овуляции был применен рекомбинантный хорионический гонадотропин (или Овитрель), при этом данный препарат вводился единовременно в размере 250 мкг. Трансвагинальная пункция проводилась через 35 – 40 часов после введения триггера овуляции, оплодотворение ооцитов проводилось через 4-5 часов методом ИКСИ. Преинкубация, оплодотворение ооцитов, культивирование эмбрионов происходило в средах для культивирования G-TLVitrolife, G-IVFPLUS Vitrolife. Два пронуклеуса через 14 – 16 часов после оплодотворения расценивали как хорошее оплодотворение. Подсчет количества полученных ооцитов проводился по общепринятой шкале. Качество эмбрионов оценивалось по классификации Lens J. W. [161]. Эмбрионы «хорошего» качества имели 6-8 бластомеров и не больше 10% фрагментации. Для оценки эмбрионов на стадии бластоцисты использовалась модифицированная система Гарднера [127] с оценкой степени экспансии бластоцисты (формирование полости), оценкой клеток внутренней клеточной массы и оценкой клеток трофобласта. Криоконсервирование и размораживание эмбрионов проводили с использованием набора для витрификации и размораживания VT601-Top Kitazato и VT602-Kit Kitazato (Япония) согласно протоколу производителя.

Методика криопротокола: в качестве ЦГТ в ходе криопротокола применялся эстроген-гестагенный прайминг (эстрадиол-гель трансдермально 4 мг с 2-го дня МЦ, при достижении эндометрием толщины 8,5 мм и визуализации трехслойной структуры, назначали микронизированный прогестерон 600 мг ежедневно интравагинально до получения результатов ХГЧ. Перенос селективного эмбриона в цикле осуществляли на 5-й день развития, через 1-2 месяца после криоконсервации. Посттрансферный период вели стандартно с применением препаратов микронизированного прогестерона, введение которого начинали через 24 часа после пункции до результатов ХГЧ, средняя доза составила 400 мг/сутки.

Оценка эффективности ЭКО (криопротокол) проводилась по следующим критериям: наличие биохимической беременности устанавливалось путем исследования уровня хорионического гонадотропина в крови через 12 – 14 дней от момента переноса эмбрионов; наличие клинической беременности подтверждалось ультразвуковым исследованием с подтверждением наличия маточной беременности на 21– 23 день после переноса эмбрионов; частота живорождения – количество рожденных детей к общему количеству на пациенток (на цикл и на перенос) (%).

2.2 Методы исследования

2.2.1 Клинико-лабораторные исследования

До проведения процедуры все пациентки подверглись обследованию согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020 г. № 803н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению", приказу Министерства здравоохранения РФ от 20 октября 2020 г. N 1130н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология", приказом Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020 г. № 803н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению" и клинических рекомендаций «Нормальная

беременность». Проводилось определение кровяных антител к бледной трепонеме; наличия антител типа М, G к ВИЧ, к антигену гепатита В и С, к антигену вируса герпеса по результатам анализа крови. Кроме того, были выполнены микроскопический анализ выделений из влагалища и цервикального канала и ряд лабораторных исследований, включающих общий анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, исследование системы гемостаза; определение антител класса М, G к вирусу краснухи в крови, микроскопия влагалищных мазков, цитологическое исследование шейки матки. До начала первой процедуры ЭКО женщинам, отобранным для участия в эксперименте, было выполнено УЗИ органов малого таза, проведены анализы крови на следующие показатели: АМГ, Е2, ЛГ, ФСГ, пролактин, тестостерон, кортизол, ДГЭА, 17-ОН, П, ТТГ, СТГ, Т4, Т3, АТ-ТПО. Была выполнена флюорография легких и маммография, регистрация электрокардиограммы и прием врача-терапевта. Обоим партнерам проведено медико-генетическое обследование. Партнерам пациенток выполнено исследование эякулята.

2.2.2 Исследование гормонального статуса и параметров овариального резерва

Забор венозной крови проводился в утренние часы с 7.00 до 9.00 с помощью вакуумных систем «УНИЛАБ» (Россия).

Оценка гормонального статуса и овариального резерва пациенток с бесплодием позднего репродуктивного возраста и пациенток контрольной группы проводилась путем исследования ФСГ и ЛГ, эстрадиола, АМГ (2-5 день цикла), и прогестерона во вторую фазу (19-23 день цикла). Исследование проводилось методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа (ECLIA) в условиях лаборатории Helix.

Сниженным овариальным резервом, согласно критериям ESHRE, принимался уровень АМГ 0,5-1,1 нг/мл и наличие 5-7 антральных фолликулов при проведении УЗИ исследования. Дополнительно анализировался уровень

базального ФСГ, который при референсных интервалах от 3 до 8 МЕ/л оценивался как норма, при интервале 8–10 МЕ/л – как умеренно сниженный, при 10–12 МЕ/л – как низкий овариальный резерв.

Забор образцов периферической крови (ПК) и фолликулярной жидкости (ФЖ) (пг/мл) для определения содержания мелатонина проводили в утренние часы (с 7.00 до 9.00). Уровень мелатонина оценивался методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием.

2.2.3 Оценка оксидантного статуса фолликулярной жидкости

Сбор и подготовка фолликулярной жидкости

Образцы фолликулярной жидкости были тщательно аспирированы во время извлечения яйцеклеток и собраны в индивидуальные стерильные контейнеры. Забор проводился из фолликулов более 16 мм. Исключены образцы, загрязненные кровью или средой. Образцы центрифугировали при $800 \times g$ в течение 10 мин для удаления клеточных компонентов; надосадочная жидкость была витрифицирована и затем использована для определения супероксиддисмутазы (СОД, SOD) и малонового диальдегида.

Активность SOD измеряли путем ингибирования автоокисления пирогаллола при 420 нм (УФ/видимый спектрофотометр). Активность SOD выражали в мМЕ/мг белка, где 1 Ед – количество фермента, необходимое для примерно 50%-ного ингибирования аутоокисления пирогаллола. Одна единица SOD описывается как количество фермента, необходимое для 50%-ного ингибирования.

Малоновый диальдегид (MDA) измеряли с использованием метода тиобарбитуровой кислоты (ТВА). Значения были выражены в виде μM .

Измеренные значения были усреднены для всех фолликулов, полученных от данной пациентки. Рассчитывали коэффициент SOD/MDA (у.е. в фолликулярной жидкости), представляющий соотношение антиоксидантов к прооксидантам, отражающий уровень оксидативного стресса.

2.2.4 Исследование цитокинового статуса и ростовых факторов цервикальной слизи

Отбор цервикальной слизи (ЦС) был выполнен в среднесекреторный период (от 19 до 22 дня менструального цикла) с применением специальных тампонов Medschenker южнокорейского производства. Уровень концентрации интерлейкинов типа IL-6, IL-10, TGF β , VEGF и кателицидина (LL37) в цервикальных выделениях был определен при помощи твердофазного иммуноферментного анализа (сокращенно – ТИФА) с применением «Caltag Laboratories» американского производства. Расчет провоспалительного индекса (сокращенно – ПВИ) был выполнен как отношение IL-6/IL-10 (в условных единицах) и как соотношение TGF β 1/VEGF (также в условных единицах).

2.2.5 Инструментальные исследования

Ультразвуковое исследование (УЗИ)

Процедура УЗИ была выполнена всем женщинам-участницам исследования на 5 – 6 день МЦ, в дни вероятной овуляции, 11 –16 день МЦ и во время секреторной фазы (в период от 19 до 21 дня) с использованием ультразвукового аппарата Voluson E8, с применением трансабдоминальных датчиков мониторинга, имеющих частоту 3,5 мГц, и трансвагинальных датчиков мониторинга с частотой 5 мГц и 6,5 мГц в цветном и черно-белом режиме.

Оценка полученных изображений была выполнена на основе классических методов анализа в сфере ультразвуковой диагностики. В процессе исследования яичников вместе с проведением биометрии были отдельно выделены функциональные признаки (дана качественная оценка фолликулярному аппарату, проверено наличие желтого тела), наличие/отсутствие патологии, выполнен расчет числа фолликулов антрального типа. В ходе оценки размеров матки, кроме геометрии, был выявлен контур, специфические особенности эхо-генной структуры, толщина эндометрия. С помощью доплерометрии в средней секреторной фазе

производилась оценка величин систоло-диастолического отношения, пульсационного индекса (PI) и индекса резистентности правой и левой маточных артерий (IR), проводилось вычисление средних арифметических данных.

Офисная гистероскопия и пайпель-биопсия

Гистероскопия выполнялась с использованием офисного гистероскопа UBIPACK GYN – (Sopro-Comeg (Германия). Пайпель – биопсия проводилась при помощи уrogenитального зонда типа С «Пайпель». По результатам микробиологического, иммуногистохимического и гистологического исследования пайпель-биоптатов оценивалось состояние эндометрия и косвенно рецепторная чувствительность эндометрия.

2.2.6 Гистологическое и иммуногистохимическое исследование эндометрия

Для оценки имплантационного фактора эндометрия проводилось гистологическое и ИГХ исследование эндометрия. Забор материала осуществляли путем пайпель-биопсии. Полученный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, после чего образцы были обработаны по общепринятой стандартной методике и заключены в парафин. Проводилась окраска срезов толщиной 5 мкм гематоксилином и эозином. Исследование препаратов проводили с использованием световой микроскопии с увеличением от x50 до x400. Проводилось стандартное гистологическое исследование и оценка процента клеток поверхностного эпителия с наличием пиноподий. Для проведения ИГХ-реакций использовали депарафинированные срезы толщиной 4–5 мкм по общепринятым (DAKO protocols) протоколам. Определяли рецепцию к HLA-DR (MHC II), CD56 (NK- клетки), CD138, LIF. Рецепцию к прогестерону и эстрогену анализировали путем подсчета количества окрашенных клеток и интенсивности окраски в поверхностном эпителии, железах и строме эндометрия по методу гистологического счета HISTO Score.

2.2.7 Микробиологическое исследование

Расширенное исследование биоценоза эндометрия проводили с помощью изолированного забора содержимого полости матки, используя специальный зонд (RU 2799581C1), методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени «Фемофлор 16». Определяли общую бактериальную массу (ОБМ) и представителей нормальной и условно патогенной микрофлоры (УПМ) в биоматериале: лактобактерий (*Lactobacillus* spp.), условно патогенной микрофлоры (факультативно-анаэробных (*Enterobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.), облигатно-анаэробных микроорганизмов (*Gardnerella vaginalis* / *Prevotellabivia* / *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp.; *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp.; *Lachnobacterium* spp. + *Clostridium* spp.; *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp.; *Peptostreptococcus* spp.; *Atopobium vaginale*). Проводилось обнаружение, идентификация хламидий, микоплазм и уреаплазм – условно патогенных (*Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* + *parvum*) и патогенных (*Mycoplasma genitalium*). Определялось наличие грибов рода кандиды (*Candida* spp.), вирусов герпеса и цитомегаловируса.

2.3 Статистическая обработка данных

Для анализа исходных данных использовался специализированный статистический пакет Statistica 10.0 от разработчика StatSoft, США. Проведен предварительный и глубокий анализ начальных данных, а также ключевой процесс кластерного анализа, который определил три ключевые группы участников исследования. Описательный анализ качественных характеристик осуществлялся с учетом количественных (численных) и относительных (пропорциональных, в процентах) измерений. Проверка нормальности распределения количественных данных была выполнена на основе одно выбранных критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова, а также методом построения гистограмм с последующей оценкой в форме среднего значения плюс стандартное отклонение или медианы с

использованием межквартильного разброса. Различные количественные показатели сравнивались с учетом типа распределения с помощью как параметрических, так и непараметрических методов, включая t-тест Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни, критерий Краскела-Уоллиса и отношения шансов, T-критерий Вилкоксона. В качестве порога значимости для всех проведенных тестов был установлен уровень $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ РЕТРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1 Клиническое и лабораторное исследование

В условиях клиники «Эмбрио-Сочи» г. Сочи, «Эмбрио» г. Краснодара и Клиники КубГМУ была изучена документация 180 женщин, которые прошли через процедуры ЭКО/ИКСИ. Женщины были поделены на две равновеликие группы по 90 человек в соответствии с возрастом: ≥ 35 лет (I группа) и < 35 лет (II группа). Средний возраст всех женщин, принявших участие в ретроспективном исследовании, составил $34,1 \pm 5,5$ года. Для первой группы средний возраст равнялся $38,8 \pm 3,3$ года, для второй – $29,5 \pm 2,6$ лет. Подробное распределение по возрастным диапазонам показано в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Распределение обследуемых пациенток по возрасту

Группы	I группа			II группа	
	35-39	40-44	≥ 45	< 30	30-34
Возр. (лет)	35-39	40-44	≥ 45	< 30	30-34
N (%)	62(34,4)	20(11,1)	8(4,4)	44(24,4)	46(25,6)
M \pm SD	$36,9 \pm 1,4$	$41,3 \pm 1,3$	$46,5 \pm 1,4$	$27,2 \pm 1,2$	$31,7 \pm 1,3$
N (%)	90(50%)			90(50%)	
M \pm SD (I и II гр.)	$29,5 \pm 2,6$			$38,8 \pm 3,3$	
N (%)	180(100%)				
M \pm SD	$34,1 \pm 5,5$				

Средняя продолжительность бесплодия для всех участниц обследования составила $6,8 \pm 3,9$ года. Для первой группы это значение составляло $9,02 \pm 4,5$ года, а для второй $4,5 \pm 1,7$ года. Таким образом, наблюдалась достоверная разница между группами по продолжительности бесплодия ($p < 0,05$), что соответствует делению на возрастные группы и закономерно более длительному анамнезу бесплодия среди женщин позднего репродуктивного возраста.

Возраст менархе был примерно одинаков в обеих группах, и в целом для всей когорты среднее значение менархе составило $13,5 \pm 1,9$ лет (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Возраст менархе (лет)

Группы	I группа	II группа
N(%)	90(50%)	90(50%)
M±SD	13,4±2,3	13,7±1,7
N(%)	180(100%)	
M±SD	13,5±1,9	

Средняя продолжительность менструального цикла составила $28,4 \pm 3,2$ дней. Подробные различия между группами показаны в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Продолжительность менструального цикла (дни)

Группы	I группа	II группа
N (%)	90 (50%)	90 (50%)
M±SD	27,2±3,4	29,6±2,4
N (%)	180 (100%)	
M±SD	28,4±3,2	

П р и м е ч а н и е - * Жирным шрифтом отмечено достоверное различие ($p < 0,05$)

В исследовании было выявлено, что у представительниц старшей возрастной группы (35 лет и старше) средняя длительность менструального периода отличается, короче, чем у более молодых женщин, что подтверждается статистически значимым показателем ($p = 0,001$).

Это может объясняться как совокупностью возрастных патологий, так и уменьшением уровня прогестерона, вырабатываемого желтым телом в течение второй фазы МЦ. Внутри каждой возрастной группы не было значительных различий в длительности менструального периода, что указывает на относительную однородность участниц.

Кроме того, было изучено распределение женщин в зависимости от наличия первичного или вторичного бесплодия. Первичное бесплодие в когорте встречалось чаще – у 118 (65,5%) пациенток, преимущественно у пациенток II группы (ранний репродуктивный возраст).

Вторичное бесплодие отмечено у 62 (34,4%) пациенток. В первой группе их было 51 (56,6% от численности группы), во второй – 11 (12,2% от численности группы) (таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Женщины с вторичным бесплодием среди обследованных (лет)

Вся когорта (N = 180)		
N (%)	62 (34,4%)	
Группы	I группа (N = 90)	II группа (N = 90)
N (%)	51(28,3)	11(6,1)

П р и м е ч а н и е - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p < 0,05$)

При частотном анализе с использованием критерия Хи-квадрат было обнаружено, что между I и II группой имеются достоверные различия ($p < 0,05$) по распределению первичного и вторичного бесплодия. В I группе у пациенток позднего репродуктивного возраста чаще отмечалось вторичное бесплодие (51 из 90), чем во второй (11 из 90).

Такое различие объясняется тем, что патология, приводящая к бесплодию, формируется с возрастом, и женщины в I группе могли быть фертильными на более ранних этапах своего репродуктивного периода.

Наиболее часто встречающейся причиной инфертильности во всей когорте пациенток является эндокринное бесплодие – 77 (42,8%) пациенток, причем данный фактор предельно, статистически значимо превалирует у пациенток I группы – 52 (57,8%) ($p = 0,012$), в основном, за счет снижения овариального резерва и нарушения процессов овуляции, характерных для женщин позднего репродуктивного возраста.

Изолированно данный фактор наблюдался у 27 (30%) пациенток I группы. Во II группе также максимальное количество пациенток – 35 (38,9%) имели эндокринный патогенез бесплодия, но по причине имеющегося у них синдрома поликистозных яичников (30 (33,3%)), который в I группе встречается статистически значимо реже – 18 (20%) пациенток, $p = 0,044$.

Второе место по этиологии в когорте занимает бесплодие, связанное с трубно-перитонеальным фактором, встречающееся у 64 (35,6%) пациенток.

Статистически значимых межгрупповых отличий по данному фактору отмечено не было (I группа – 34 (37,8%) и II группа – 30 (33,3%), $p=0,754$).

Наиболее выраженное межгрупповое отличие наблюдалось по критерию «Различные гинекологические заболевания с нарушением анатомо-функционального состояния эндометрия, не сопровождающиеся ановуляцией и непроходимостью маточных труб». В данную группу входят пациентки, имеющие эндометриоз, миому матки, хронические воспалительные заболевания матки и придатков. Данная причина статистически значимо чаще встречалась у пациенток позднего репродуктивного возраста: I группа – 32 (35,6%) против 23 (25,6%) во II клинической группе, $p=0,003$.

Иммунологическое бесплодие и бесплодие неясного генеза выявлялись минимально в обеих возрастных группах и составили 1,7% по всей когорте пациенток. У женщин I и II групп наблюдались достоверные различия ($p<0,05$) по частоте диагностики мужского фактора бесплодия в анамнезе.

В I группе мужской фактор наблюдался в 35 случаях (38,5%), а во II-ой в 9 случаях (10%), $p=0,007$. Причем достаточно часто мужской фактор бесплодия сочетался с женским фактором – 25 (13,8%) случаев по когорте, преимущественно у пациенток II группы – 19 (21,1%). Подобное расхождение может быть объяснено тем, что у женщин позднего репродуктивного возраста (I группа), возраст мужей также намного старше, чем во II группе, и это сопровождается накоплением патологии, которая влияет на фертильность спермы.

Также обращал на себя внимание часто встречающийся у пациенток I группы сочетанный этиологический фактор бесплодия, который был выявлен у 47 (52,2%) женщин, что статистически значимо отличалось от частоты наличия сочетанного фактора во II группе – 10 (11,1%) случаев, $p<0,001$ (таблица 3.5).

Таблица 3.5 – Причины бесплодия у пациенток исследуемой когорты (абс./%)

Причины бесплодия	I группа, n=90		II группа, n=90		Когорта n=180		P (Chi-квдрат) I/II
	абс	%	абс	%	абс	%	
Трубно-перитонеальное бесплодие	34	37,8	30	33,3	64	35,6	0,754
Эндокринное бесплодие	52	57,8	35	38,9	77	42,8	0,012
Различные гинекологические заболевания с нарушением анатомо-функционального состояния эндометрия, не сопровождающиеся ановуляцией и непроходимостью маточных труб	32	35,6	23	25,6	57	31,7	0,003
Иммунологическое бесплодие	1	1,1	2	2,2	3	1,7	0,561
Бесплодие неясного генеза	1	1,1	5	5,6	6	3,3	0,097
Мужской фактор	35	38,9	9	10,0	44	24,4	0,004
Сочетанный фактор	47	52,2	10	11,1	57	31,7	<0,001

П р и м е ч а н и е - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p < 0,05$)

В ходе анализа акушерского анамнеза выявлено, что преобладающей патологией в нем у всей когорты пациенток была внематочная беременность (48,9%), которая у пациенток I группы встречалась в 35,6% случаев и во II группе – в 66,2% случаев (таблица 3.6). Причем у 13,3% пациенток I группы и у 31,1% пациенток II группы данная патология встречалась дважды и закончилась двусторонней тубэктомией.

Таблица 3.6 – Акушерский анамнез у пациенток с бесплодием (абс./%)

Акушерский анамнез	I группа, n=90		II группа, n=90		Когорта, n=180		P (Chi-квдрат)
	абс	%	абс	%	абс	%	
Срочные роды	23	25,6	12	13,3	35	19,4	0,039
Преждевременные роды	3	3,3	1	1,1	4	2,2	0,463
Самопроизвольный выкидыш	4	4,4	5	5,6	9	5,0	0,358
Замершая беременность	2	2,2	2	2,2	4	2,2	0,795
Внематочная беременность	32	35,6	56	62,2	88	48,9	<0,001

П р и м е ч а н и е - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p < 0,05$)

Срочные роды в 2 раза чаще отмечены у пациенток старшего репродуктивного возраста (I группа) ($p=0,039$), что соответствует большей частоте выявляемого у них вторичного бесплодия (таблица 3.6).

У женщин обеих групп в гинекологическом анамнезе определялись такие заболевания, как миома матки, эндометрит, эндометриоз, сальпингоофорит, аденомиоз, аномалии развития матки и опухоли придатков. Обращало на себе внимание статистически значимое увеличение частоты гиперпластических заболеваний (миома матки ($p=0,008$), эндометриоз ($p=0,006$), гиперплазия эндометрия ($p=0,047$) у пациенток I группы и опухолей придатков с резекцией яичников ($p=0,009$) (таблица 3.7). Во II группе среди гинекологической патологии статистически значимо преобладал синдром поликистозных яичников (СПЯ), ($p=0,044$). Воспалительный анамнез (эндометрит, сальпингоофорит, вагинит) встречался у 40% пациенток, при этом статистически значимых межгрупповых отличий выявлено не было (таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Гинекологический анамнез у пациенток с бесплодием (абс./%)

Патология	I группа n=90		II группа n=90		Когорта n=180		P (χ- квадрат)
	абс	%	абс	%	абс	%	
Двурогая матка	3	3,3	1	1,1	4	2,2	0,561
Хронический метроэндометрит	25	27,8	19	21,1	44	24,4	0,526
Перитонеальный эндометриоз	17	18,9	30	33,3	47	26,1	0,042
Аденомиоз	12	13,3	2	2,2	14	7,8	0,006
Миома матки	24	26,7	10	11,1	34	18,9	0,008
Гиперплазия эндометрия, полип эндометрия	13	14,4	5	5,5	18	20	0,047
Сальпингит, сальпингоофорит	21	23,3	18	20,0	39	21,7	0,569
Вагинит	56	62,2	47	52,2	103	57,2	0,354
Бартолинит	2	2,2	2	2,2	4	2,2	0,572
Опухоли придатков	18	20,0	6	6,7	24	13,3	0,009
СПЯ	18	20,0	30	33,3	48	26,7	0,044

Примечание - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p<0,05$)

Итоговое количество операций составило 223 случая, включая диагностические лапароскопии, или 174 полостные операции, проводимые с целью коррекции определенных заболеваний (таблица 3.8).

Таблица 3.8 – Перенесенные операции в анамнезе

Перенесенные операции	I группа, n=90		II группа, n=90		Когорта, n=180	
	абс	%	абс	%	абс	%
Диагностическая лапароскопия	55	61,1	56	62,2	111	61,7
Абляции или эксцизия очагов перитонеального эндометриоза	17	18,9	30	33,3	47	26,1
Миомэктомия	15	16,7	5	5,6	20	11,1
Овариоэктомия	2	2,2	1	1,1	3	1,7
Резекция яичника	2	2,2	2	2,2	4	2,2
Цистовариоэктомия	7	7,8	5	5,6	12	6,7
Туботомия	32	35,6	56	62,2	88	48,9
Гистероскопия. Раздельное диагностическое выскабливание	13	14,4	5	5,6	18	10,0
Хирургическое лечение шейки матки	13	14,4	14	15,6	27	15,0
Удаление кисты бартолиновой железы	2	2,2	2	2,2	4	2,2
Общее количество полостных операций (без диагностических)	75	83,3	99	110	174	96,7

В среднем на одну пациентку из когорты приходилось 0,9 операций. Высокий индекс оперативной активности присутствовал в обеих группах, однако преобладающая частота отмечалась в раннем репродуктивном возрасте. Наиболее часто у пациентов когорты выполнялась одно- или двусторонняя туботомия, частота которых практически в 2 раза больше у пациенток II группы, $p=0,007$.

Анализ соматической патологии, эндокринных и метаболических нарушений не выявил значительных различий (рисунок 3.1). При анализе соматического анамнеза и патологий мы не обнаружили статистически значимых межгрупповых отличий в частоте перенесенных детских инфекций (краснуха, ветряная оспа, эпидемический паротит) и частоте заболеваемости ОРВИ ($p=0,865$, $p=0,095$ соответственно). Случаи хронического тонзиллита, аденоид, хронического

гайморита имели статистически значимо большую встречаемость у пациенток II группы ($p=0,007$).

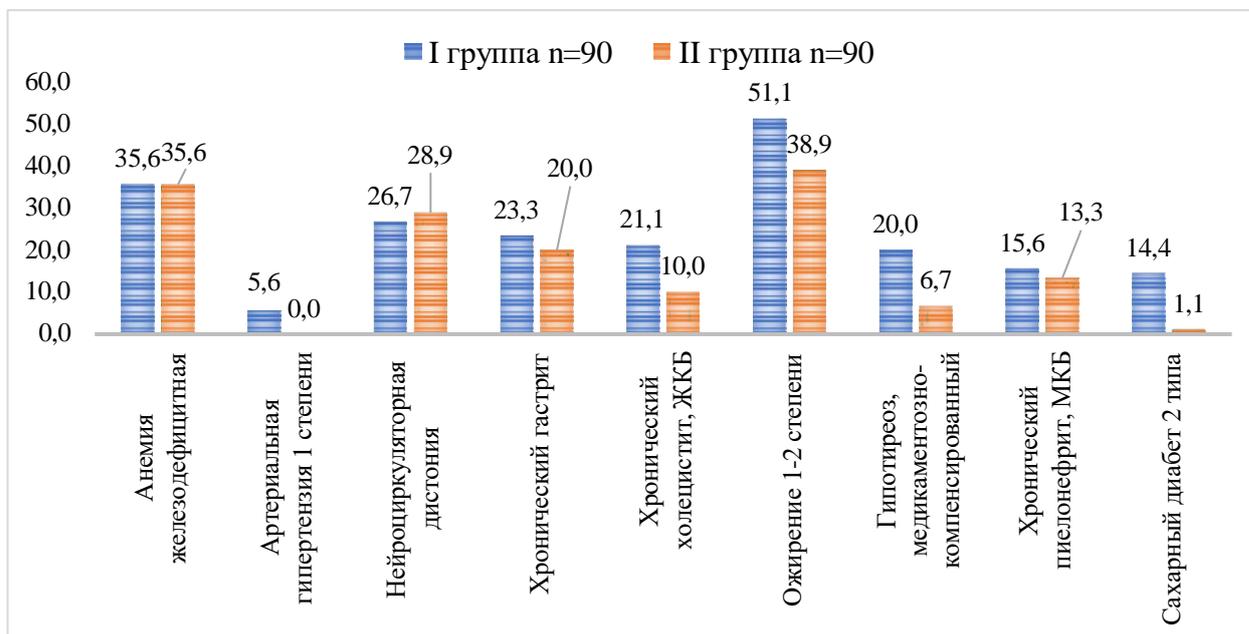


Рисунок 3.1 – Распределение экстрагенитальной патологии у обследуемых (%)

Так как перед направлением на цикл ВРТ пациентки согласно приказу 803Н проходили обследование у терапевта, серьезных соматических заболеваний, способных повлиять на течение беременности у них, не было. Среди соматических заболеваний у пациенток обеих групп отмечена высокая частота железодефицитных анемий без статистически значимых межгрупповых отличий. В I группе с небольшой, но статистически значимой разницей преобладали ожирение ($p=0,003$), гипертензионные расстройства $p=0,003$, гипотиреоз ($p=0,004$) и сахарный диабет 2 типа. Остальная нозология встречалась с практически одинаковой частотой в обеих группах и перед вступлением в цикл ЭКО находилась в стадии ремиссии или медикаментозной компенсации (рисунок 3.1).

3.2 Результаты лабораторно-инструментальных исследований

При включении в цикл ЭКО всем женщинам из исследуемой когорты выполняли комплекс лабораторно инструментальных исследований, включая

общий анализ крови, общий анализ мочи, ПЦР, диагностику инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), посев из цервикального канала на флору и чувствительность к антибиотикам, гормональный статус, УЗИ молочных желез, щитовидной железы, матки и придатков. При наличии инфекции женских половых органов и дисбиозов влагалища проводилась санация до полного элиминирования патогена и нормализации микробиоценоза. Однако в анамнезе у пациенток II группы было выявлено статистически значимо большая частота случаев инфицирования и дисбиотических расстройств ($p=0,008$) (рисунок 3.2).

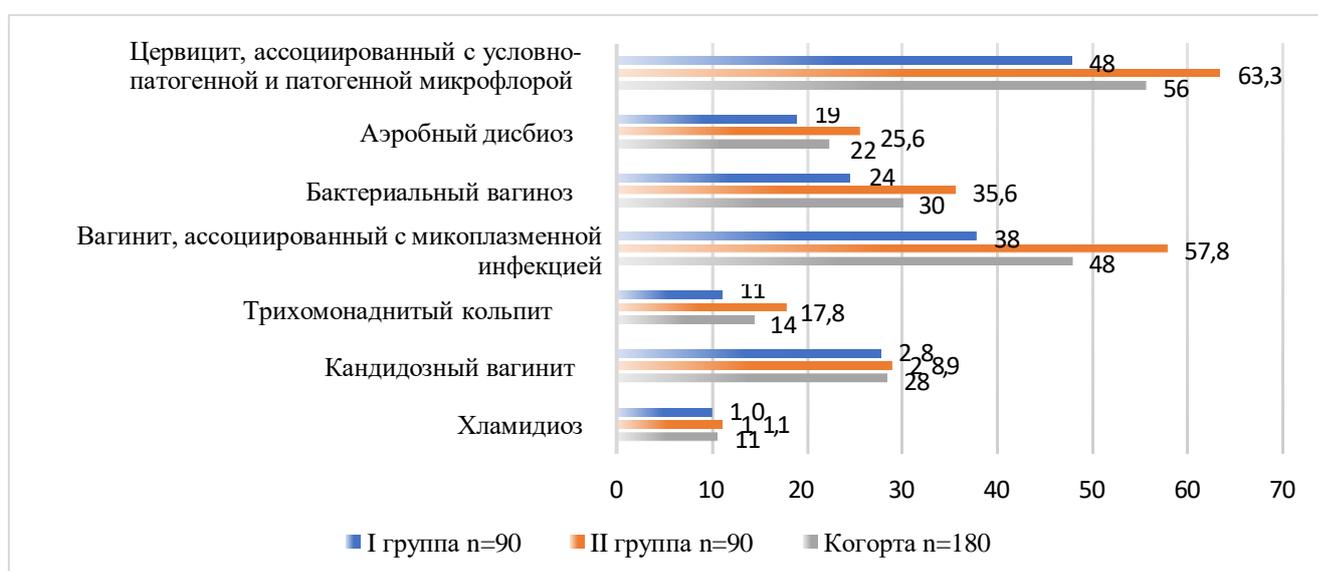


Рисунок 3.2 – Частота встречаемости инфекционных заболеваний и дисбиотических процессов в анамнезе у обследованных больных, %

3.2.1 Лабораторная диагностика

Общетерапевтический анализ крови не показал достоверных различий ни по одному из показателей (таблица 3.9).

Таблица 3.9 – Основные показатели общего анализа крови ($M \pm SD$)

Показатель	Когорта n=180	I группа, n=90	II группа, n=90
Гемоглобин, г/л	133,6±14,4	132,7±13,7	134,5±15,2
Лейкоциты, 10^9 /л	6,4±1,1	6,4±1,1	6,4±1,07
СОЭ, мм/ч	8,2±4,1	8,03±4,2	8,4±4,2

В первой группе признаки снижения гемоглобина (анемии) наблюдались у 12% женщин, а во второй группе – у 14%. Тем не менее, у всех значения гемоглобина не были ниже 102 г/л. Для нормализации показателей гемоглобина пациенткам были назначены препараты железа до нормализации показателей.

При проведении гормонального скрининга нас в первую очередь интересовали значения пролактина, ФСГ, ЛГ, прогестерона и эстрогена, совокупное действие которых определяет созревание фолликулов, овуляцию и подготовку слизистой оболочки матки к беременности. Данные по результатам ФСГ показаны ниже (таблица 3.10).

Таблица 3.10 – Значения ФСГ в когорте (2-3 день цикла), мМЕ/мл

Группы	I группа, n=90	II группа, n=90
M±SD	10,7±2,43	8,7±2,50

Примечание - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия (p<0,05)

В I группе уровень ФСГ был достоверно выше, чем во II-ой (p=0,008), хотя абсолютное различие средних значений было невелико. Выработка ФСГ с возрастом постепенно повышается в ответ на медленное угасание функции яичников, снижение синтеза эстрогенов и такая картина не является неожиданной. Таким образом, повышение концентрации ФСГ может быть маркером снижения фертильности. Результаты тестирования на содержание ЛГ показаны в таблице 3.11

Таблица 3.11 – Содержание ЛГ у обследуемых пациенток (2-3 день цикла), мМЕ/мл

Группы	I группа, n=90	II группа, n=90
M±SD	10,1±2,43	8,01±2,15

Примечание - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия (p<0,05).

Значения ЛГ также оказались выше в I группе по сравнению со II-ой

($p=0,011$), что может свидетельствовать о недостаточной стимуляции яичников со стороны гипофизарной системы. ЛГ является основным гормоном, обеспечивающим овуляцию. Его избыточный синтез или несвоевременный пик может стать причиной неудачи зачатия в процедурах ВРТ, как эффект рассинхронизации статуса эндометрия и уровня созревания эмбриона.

Третьим гормоном, отражающим функцию гипофиза, значения которого мы также использовали в наших исследованиях, был пролактин (таблица 3.12).

Таблица 3.12 – Показатели пролактина у пациенток (2-3 день цикла), мМЕ/мл

Группы	I группа, n=90	II группа, n=90
M±SD	193,6±60,46	208,2±96,88

Содержание пролактина достоверно не различалось между группами. Высокие его уровни способны замедлять созревание яйцеклеток и приводить к ановуляции, но в обследуемой когорте этот показатель был в пределах нормальных значений (86-650 МЕ/л).

Непосредственную роль в созревании яйцеклетки, росте и пролиферации эндометрия играют гормоны, продуцируемые яичниками, в том числе эстрадиол (E2). Снижение его выработки может снижать фертильность. Результаты значений E2 показаны в таблице 3.13.

Таблица 3.13 – Концентрации эстрадиола (E2) в крови пациенток (2-3 день цикла), пмоль/мл

Группы	I группа n=90	II группа n=90
M±SD	273,2±145,8	287,64±142,7
Когорта N(%)	180(100%)	
M±SD	293,4±143,9	

В нашем исследовании не выявлено статистически достоверных различий между группами пациенток по уровню эстрадиола, однако отсутствие нормального

распределения индивидуальных показателей уровня эстрадиола и статистические выбросы в I группе у пациентов старшего репродуктивного возраста указывают на необходимость более углубленного изучения данных с применением статистических многомерных процедур.

Прогестерон является важным гормоном, обеспечивающим переход эндометрия матки из пролиферативной фазы к секреторной, подготавливая, таким образом, матку к имплантации эмбриона. Его низкий уровень может стать причиной женского бесплодия. Уровень прогестерона определяли во вторую фазу менструального цикла, когда его нормальные значения варьируют в пределах 5,84-96,0 нмоль/л (таблица 3.14).

Таблица 3.14 – Концентрация прогестерона в крови пациенток, нмоль/л

Группы	I группа, n=90	II группа, n=90
M±SD	29,1±17,95	34,8±17,24

Примечание - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p < 0,05$)

В I группе средний уровень прогестерона был достоверно ниже ($p < 0,05$), чем во II группе. Возможной причиной бесплодия во II группе может быть отсутствие в эндометрии полноценного «окна» имплантации, в том числе вследствие недостаточно высокого уровня прогестерона.

АМГ наряду с фолликулярным резервом, определяемым по данным УЗИ, является надежным предиктором возможного наступления беременности (таблица 3.15).

Таблица 3.15 – Уровень АМГ в крови пациенток, нг/мл

Группы	I группа, n=90	II группа, n=90
M±SD	2,8±1,92	3,5±1,89
N (%)	180(100%)	
M±SD	3,1±1,93	
	0,003	

Примечание - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p < 0,05$)

Среднее значение АМГ для всей когорты составило $3,1 \pm 1,93$ нг/мл. Наблюдалось достоверное различие между возрастными группами по содержанию этого гормона. В I группе его среднее значение составило $2,8 \pm 1,92$ нг/мл, а во II – $3,5 \pm 1,89$ нг/мл. АМГ вырабатывается созревающими (преантральными, малыми антральными до 8 мм) фолликулами и отражает их созревание и готовность к оплодотворению. Снижение его средних значений, наблюдаемое у женщин ≥ 35 лет, вероятно, указывает на нарушение процессов созревания, что может приводить к уменьшению числа антральных фолликулов и, соответственно, уменьшению вероятности наступления беременности.

3.3 Инструментальная диагностика

Исследование молочных желез методом УЗИ обнаружило дисгормональную дисплазию молочных желез у 12,8% (11) женщин I группы и у 10% (9) женщин II группы. Отличия по распределению не были достоверными, однако повышенная частота данной патологии в позднем репродуктивном периоде, вероятно, является следствием относительной или абсолютной гиперэстрогении и прогестерон-дефицитного состояния.

Методом УЗИ было установлено наличие патологии щитовидной железы в 12,2% (11 пациенток) случаев в I группе и у 10% (9 пациенток) женщин второй группы. У женщин первой группы диагностировали диффузно-токсический зоб в 10% (9 пациенток) случаях, по 5,5% (5 пациенток) случаев приходилось на узловой зоб и гипотиреоз. У женщин моложе 35 лет выявили гипотиреоз в 6,6% (6 пациенток) случаях, узловой зоб – в 3,3% (3 пациентки) случаях.

УЗИ малого таза позволило выявить наличие спаечного процесса малого таза у 15 (8,3% от всей когорты) женщин I группы и у 18 (10,0% от всей когорты) пациенток II группы ($p < 0,05$), в когорте данный показатель составил 18,3% (рисунок 3.3).

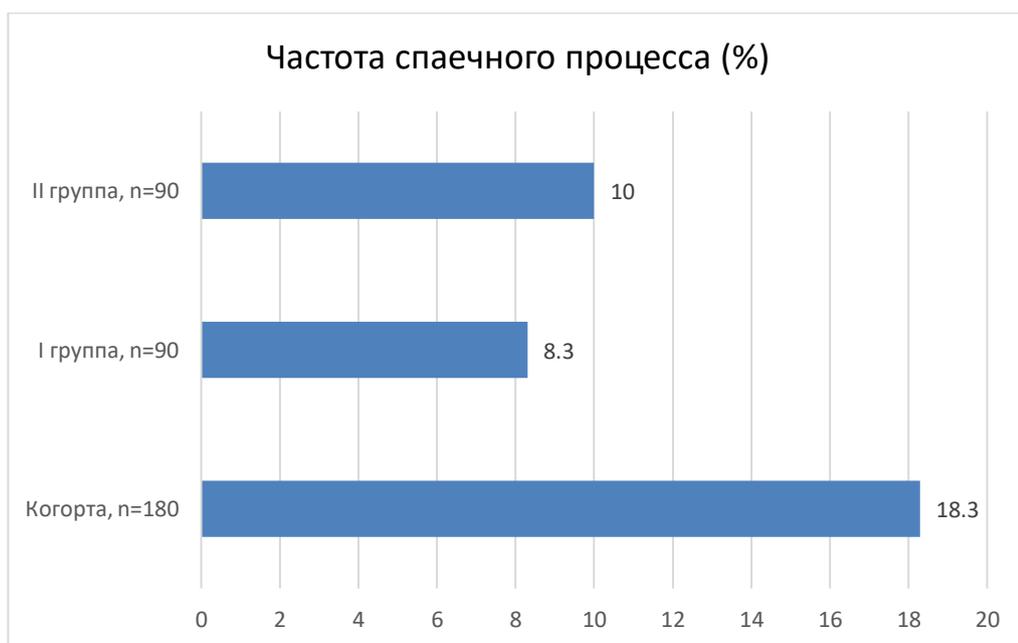


Рисунок 3.3 – Частота обнаружения спаечного процесса на УЗИ, %

УЗИ матки выполнялось на 10-12 дни МЦ, при этом измерялась толщина функционального слоя эндометрия. В среднем, в когорте толщина эндометрия составила $7,8 \pm 2,5$ мм, для I группы это значение равнялось $7,5 \pm 2,2$ мм, а для II-ой – $10,1 \pm 2,7$ мм, что позволяет говорить о достоверных различиях ($p=0,005$). Снижение толщины эндометрия у женщин ≥ 35 лет может указывать на недостаточность пролиферативной фазы, что снижает вероятность имплантации эмбриона.

Перед началом стимуляции яичников проводилось предварительное УЗИ органов малого таза при пустом мочевом пузыре.

Оценка овариального резерва проводилась на основе количества зрелых фолликулов, выявленных при ультразвуковом исследовании. У 30 (33,3%) женщин старше 35 лет (I группа) отмечалось снижение овариального резерва в то время, как только у 3 (3,3%) женщин моложе 35 лет (II группа) было выявлено подобное снижение ($p \leq 0,05$). Это различие не является неожиданным, так как с возрастом уменьшается количество фолликулов, и это отражается на фертильности в позднем репродуктивном возрасте.

3.4 Результаты исследования пайпель-биопсии

У 74 (41,1%) пациенток (46 (51,1%) I группы и 28 (31,1%) II группы), участвующих в ретроспективном исследовании, была взята аспирационная (пайпель) биопсия эндометрия на 19-21 день МЦ. Нашей целью было оценить готовность эндометрия к имплантации и возможное наличие эндометриальных факторов бесплодия.

В первую очередь мы анализировали концентрацию прогестероновых и эстрогеновых рецепторов в клетках железистого эндометрия и стромы матки (рисунок 3.4, таблица 3.16).

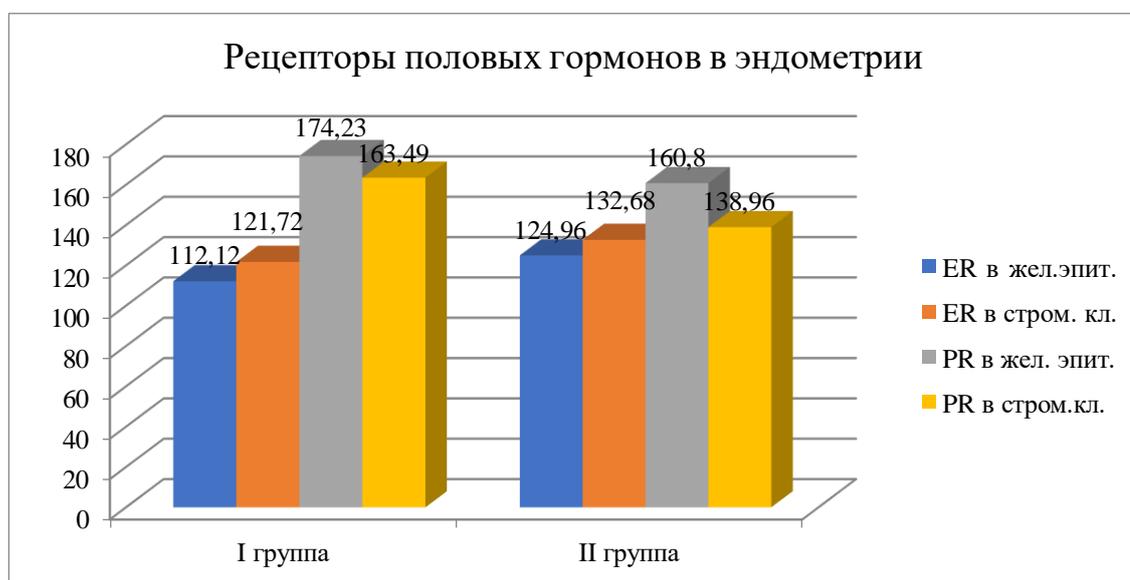


Рисунок 3.4 – Концентрация (баллы) эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в эндометрии

Как видно из приведенных данных, в I группе по сравнению со II-ой, отмечаются более низкие концентрации ER и более высокие концентрации PR в железистом эпителии и стромальных клетках эндометрия. Ранее мы показали, что в крови женщин I группы определяли более высокие уровни эстрогена и низкие значения прогестерона по сравнению с концентрацией этих гормонов у женщин II группы.

Возможно, измененная концентрация рецепторов может быть реакцией на содержание гормонов к ним, и повышенная экспрессия PR теоретически могла бы

улучшить восприимчивость матки к снижению количеству прогестерона у пациенток ≥ 35 лет.

Таблица 3.16 – Концентрация (в баллах) эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в железистом эпителии и стромальных клетках эндометрия

Рецепторы и их локализация	I группа, n=41	II группа, n=28	Вся когорта, n=69	p
ER в клетках железистого эпителия	112,12±40,96	124,96±41,39	118,5±41,56	0,038
ER в клетках стромы	121,72±27,67	132,68±30,30	127,2±29,45	0,012
PR в клетках железистого эпителия	174,23±30,23	160,8±30,05	167,5±30,80	0,003
PR в клетках стромы	163,49±30,57	138,96±33,35	151,2±34,19	0,001

П р и м е ч а н и е - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p < 0,05$)

Содержание других иммуногистохимических маркеров в эндометрии, которые могут быть причиной бесплодия, показаны в таблице 3.17. Экспрессия LIF определялась только в 20 образцах эндометрия (10 – в первой группе и 10 – во второй), и его количество выражалось в % клеток эпителия эндометрия и стромы, экспрессирующих этот маркер. Остальные маркеры выражались в числе клеток в поле зрения, их экспрессирующих (таблица 3.17).

Таблица 3.17 – Маркеры бесплодия в эндометрии (количество клеток в поле зрения, экспрессирующих данный маркер)

Маркеры и их локализация	I группа, n=41	II группа, n=28	Когорта, n=69	p
HLA-DR (MHC II)	18,2±8,81	19,9±8,4	19,03±8,62	0,217
CD56 (NK-клетки)	12,9±5,03	14,3±5,26	13,6±5,18	0,073
CD138 (плазмоциты)	2,07±1,39	2,02±0,76	2,04±1,12	0,837
LIF в железистом эпителии, %	22±7,59	26,1±5,86	26,5±6,61	0,047
LIF в клетках стромы, %	21,3±5,96	26,1±3,00	27,7±4,88	0,035

П р и м е ч а н и е - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p < 0,05$)

Анализ содержания концентраций ряда рассмотренных клеточных маркеров не обнаружил достоверного различия между группами. В случае CD56 (NK-клетки)

уровень значимости p приближался к пороговому значению ($p=0,073$), однако мы не можем утверждать достоверность превышения этого показателя у женщин во II группе. Однако полученное в когорте превышение числа НК-клеток выше 10 в поле зрения не является благоприятным, поскольку служит свидетельством усиления клеточного иммунитета, нежелательного при беременности. Параметры LIF как в железистом эпителии, так и клетках стромы были статистически значимо уменьшены ($p=0,047$ и $p=0,035$, соответственно), что косвенно свидетельствует о недостаточности имплантационного потенциала эндометрия у пациенток I группы (поздний репродуктивный период).

3.5 Прегравидарная подготовка

По данным медицинской документации прегравидарная подготовка пациенток в каждом случае проводилась в соответствии с Клиническими рекомендациями (РОАГ) (2023) «Нормальная беременность» и включала прием витаминов и минералов, а также соответствовала пункту «Дополнительные мероприятия для женщин с гинекологическими заболеваниями, имеющими акушерский анамнез», включая меры по устранению выявленных инфекционных факторов, обнаруженных в анализах мазков из влагалища и цервикального канала, компенсацию выявленных эндокринных факторов бесплодия, коррекцию недостаточности лютеиновой фазы, а также мероприятия, рекомендуемые пациенткам с наследственными тромбофилиями, и мероприятия по восстановлению эндометрия, включающие эстроген-гестагенный прайминг и УЗ-кавитацию полости матки, физиотерапию и PRP-терапию. Эстроген-гестагенный прайминг и PRP-терапия как мероприятия по восстановлению «тонкого» эндометрия статистически значимо чаще проводились у пациенток I группы – у 28 (31,1%) пациенток, $p<0,001$, и у 5 (5,5%) пациенток II группы, $p<0,001$. УЗ-кавитация полости матки и физиотерапевтические методы с одинаковой частотой использовались у пациенток I и II групп, $p=0,352$, $p=0,437$ соответственно (таблица 3.18).

Таблица 3.18 – Методы прегравидарной подготовки (терапии)

Виды прегравидарной подготовки (терапия)	I группа, n=90		II группа, n=90		Когорта, n=180		p
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	
Эстроген- гестагенный прайминг	28	31,1	14	15,6	42	23,3	0,001
УЗ-кавитация полости матки	16	17,8	15	16,7	18	10,0	0,352
PRP терапия	5	5,6	1	1,1	6	3,3	0,001
Физиотерапия (магнитотерапия, лазеротерапия)	5	5,6	6	6,7	11	6,1	0,437

Обращало на себя внимание, что в целом активная специфическая прегравидарная подготовка, даже у пациенток позднего репродуктивного возраста, использовалась только у трети пациенток, как правило, при наличии у них «тонкого» эндометрия и высокого инфекционного индекса в анамнезе. В остальных случаях использовалась стандартная прегравидарная подготовка.

3.6 Результаты фолликулогенеза и эмбриогенеза

По данным ретроспективного исследования у пациенток для стимуляции функции яичников были использованы длинный (а-ГнРГ) и короткий (ант-ГнРГ) протоколы стимуляции, выбор которых определялся:

- значениями овариального резерва;
- гормональным статусом;
- предшествующим репродуктивным анамнезом;
- возрастом пациенток.

Целью выбранного протокола было получение максимального количества зрелых фолликулов и жизнеспособных качественных эмбрионов.

Никаких статистических различий в применении длинного и короткого протокола между группами и внутри групп не было выявлено (Chi-квадрат,

односторонняя значимость $p = 0,383$, двусторонняя значимость $p = 0,655$). В группе женщин ≥ 35 протоколы длинной и короткой стимуляции применялись в равных соотношениях ($n = 45, 50,0\%$), а в младшей возрастной группе короткий протокол выполняли у 48 (53,3%) женщин, а длинный – у 42 (46,7%). Всего протокол короткой стимуляции в общей когорте применялся в 51,7% случаев (рисунок 3.5).

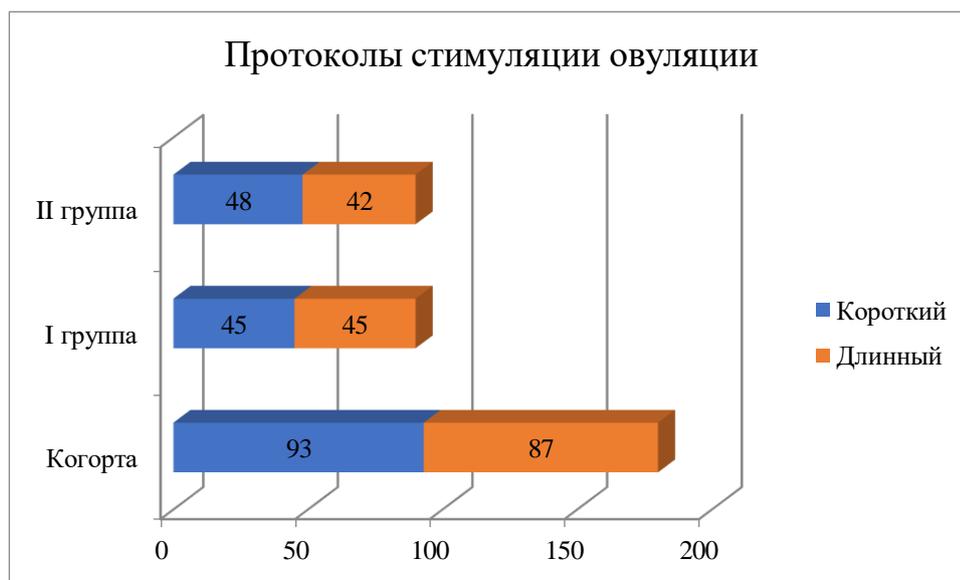


Рисунок 3.5 – Распределение пациенток, получавших длинный и короткий протоколы стимуляции (указано количество пациенток)

В результате проведения 180 циклов стимуляции овуляции было получено 1721 ооцит: в первой группе – 751, во второй – 970. Данные описательной статистики по группам и подгруппам представлены в приведенной ниже таблице. Поскольку тест Колмогорова-Смирнова не отвергал нормального распределения, различия между группами и подгруппами оценивали с использованием Т-критерия (таблица 3.19).

Анализ показал, что I и II группы достоверно отличаются по средним значениям количества ооцитов, полученных при стимуляции овуляции ($p < 0,001$). Причем в старшей возрастной группе среднее количество ооцитов было меньше и составило $5,7 \pm 2,51$ против $9,9 \pm 2,37$ ооцита на одну индукцию в младшей группе.

Таблица 3.19 – Количество ооцитов, полученных в цикле стимуляции

Группы	I группа, n=90	II группа, n=90
M±SD	5,7±2,51	9,9±2,37

Примечание - *Жирным шрифтом отмечены достоверные различия ($p < 0,05$)

Медианные значения составили, соответственно, 5 и 9 ооцитов на 1 женщину (рисунок 3.6).

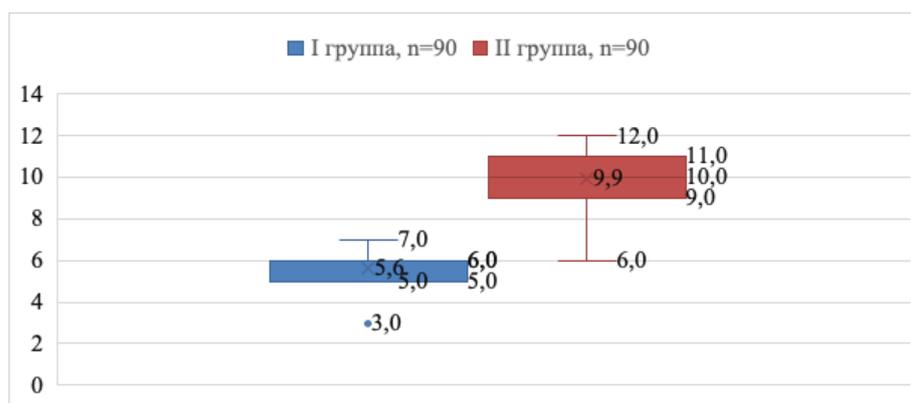


Рисунок 3.6 – Количество ооцитов, полученных в цикле стимуляции

Уменьшение количества полученных яйцеклеток в I группе, вероятно, указывает на уменьшение овариального резерва, частота которого увеличивается с возрастом. Это может быть одной из причин, объясняющих снижение способности к зачатию в более позднем репродуктивном возрасте. Из 1721 полученной яйцеклетки в процессе стимуляции овуляции, 1386 яйцеклеток (80,5%) были признаны зрелыми и высшего качества, остальные были или незрелыми (12,5%), или дегенерировавшимися (7,0%). Число зрелых яйцеклеток в I группе равнялось 533, а во II группе – 853 яйцеклетки. Распределение яйцеклеток по степени зрелости в когорте и группах визуально представлено на рисунке 3.7.

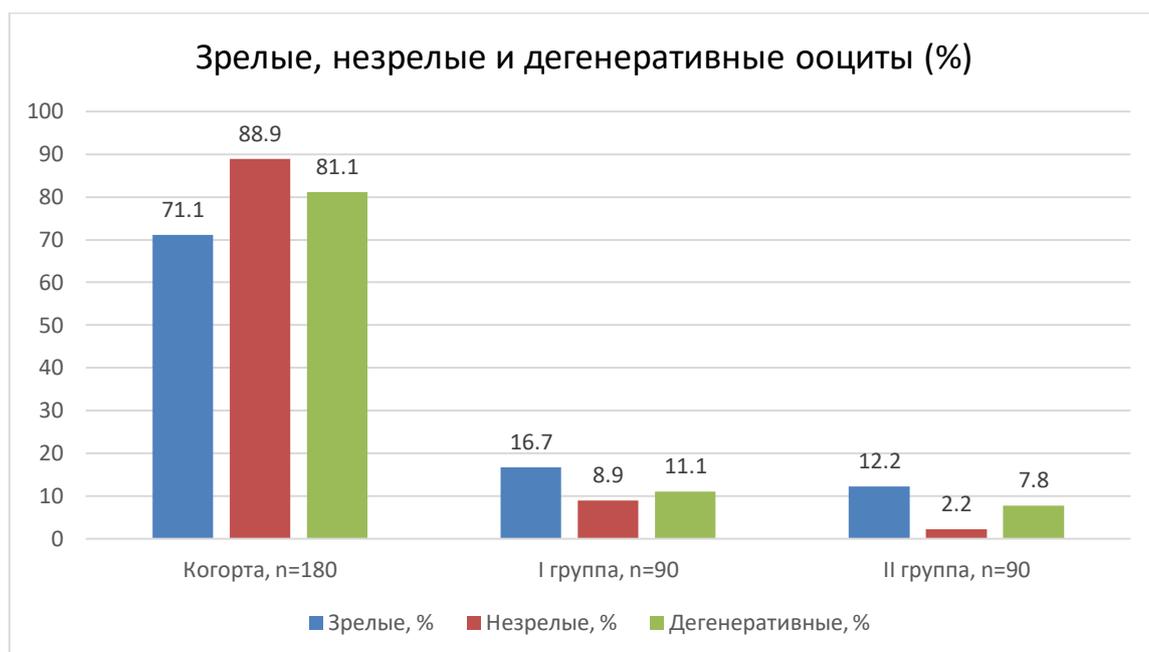


Рисунок 3.7 – Количество зрелых, незрелых и дегенеративных ооцитов

Снижение числа зрелых ооцитов в I группе может быть следствием недостаточной стимуляции со стороны гипофиза и возрастного угасания функции яичников. Для процедур ВРТ использовали зрелые ооциты хорошего качества. Было оплодотворено 1386 ооцитов, из них было получено только 977 (70,5%) эмбрионов хорошего и удовлетворительного качества (таблица 3.20.).

Таблица 3.20 – Количество полученных ооцитов в группах пациенток

Количество ооцитов	Когорта, n=180	I группа, n=90	II группа, n=90
Общее количество	977	370	607
Средн±SD	5,43±2,65	4,2±1,43	8,8±2,92
Медиана	5	4	8
25%-персентиль	4	3	5
75%-персентиль	6	5	8,75
Min	1	1	1
Max	19	7	12
Значимость		p<0,001	

Между группами отмечались достоверные различия, и у пациенток 35 лет, и старше число подходящих ооцитов, подлежащих оплодотворению, было ниже ($4,2 \pm 1,43$ против $8,8 \pm 2,92$). Разница медианных значений по группам равнялась 2 (рисунок 3.8).

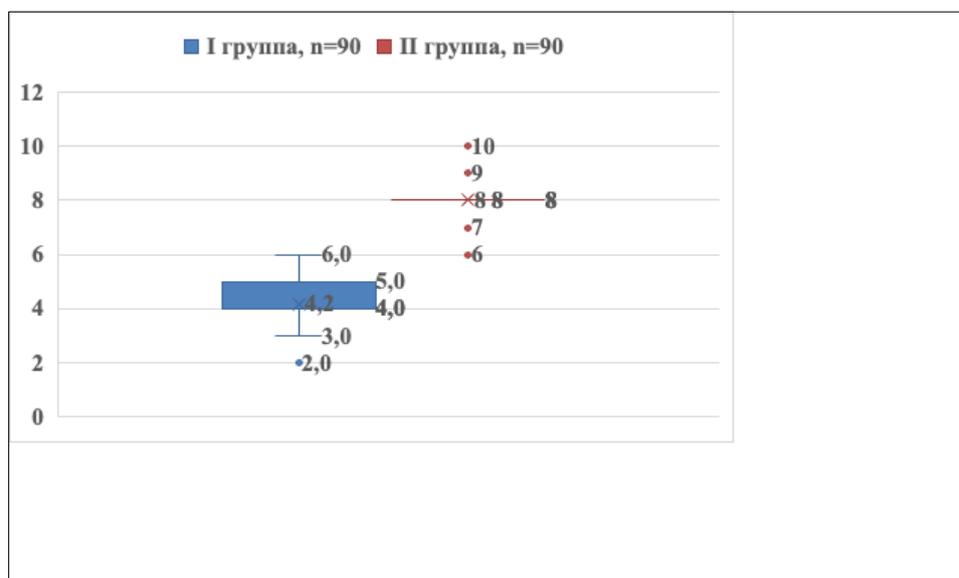


Рисунок 3.8 – Количество ооцитов на 1 женщину

Таким образом, до момента оплодотворения яйцеклеток не удалось выявить существенных различий, обусловленных протоколом стимуляции. Основные различия наблюдались только между разными возрастными группами. С возрастом наблюдается истощение фолликулярного резерва и изменение гормонального баланса, что может сказываться на количестве и качестве зрелых фолликулов, получаемых при индукции овуляции. Это объясняет расхождение данных между группами пациенток.

На 3 сутки проводили оценку дробления согласно рекомендуемой классификации для оценки фрагментации эмбрионов человека на стадии дробления: определяли его симметричность, наличие и степень фрагментации цитоплазмы. Окончательную оценку по Гарднеру проводили на 5 сутки. Кроме того, на 5 сутки оценивали качество трофэктодермы и эмбриобласта. После оплодотворения отбирались эмбрионы хорошего качества для переноса в полость матки, плохие эмбрионы утилизировались.

На 5-е сутки после оценки эмбриологом из 977 эмбрионов было отбраковано в общей сложности 48 эмбрионов из-за плохого качества – сильной фрагментации цитоплазмы и асимметричного дробления. В I группе было отбраковано 25 эмбрионов, а во II – 23 эмбриона. Это составило, соответственно 6,8% и 3,9% от числа успешно оплодотворенных яйцеклеток. Всего было отбраковано 4,9% эмбрионов от всех полученных на первом этапе эмбрионов хорошего качества (рисунок 3.9).

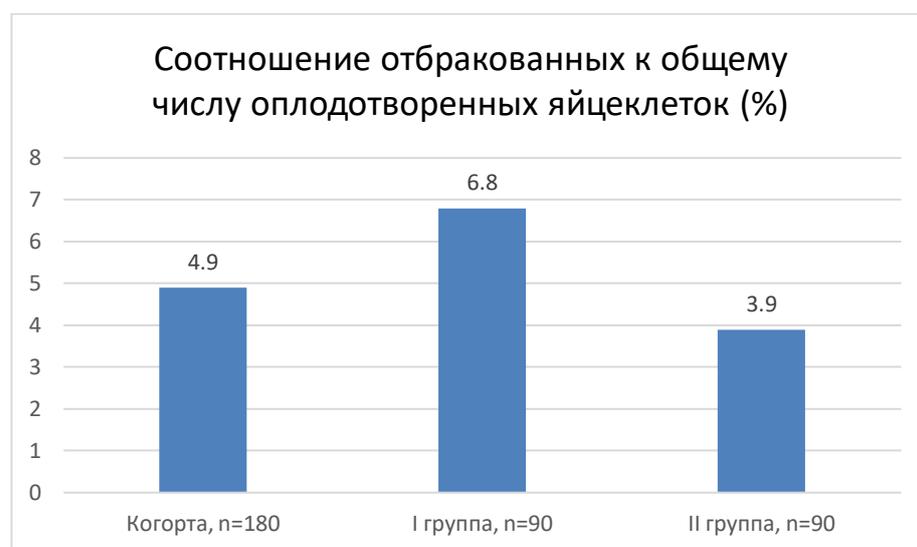


Рисунок 3.9 – Отношение числа отбракованных на 3 сутки эмбрионов к общему количеству оплодотворенных яйцеклеток, %

На 5-е сутки были утилизированы от 0 до 2 эмбрионов на 1 пациентку. Таким образом, к 3 суткам после оплодотворения в когорте, I и II группах осталось, 95,1%, 93,2% и 96,2% эмбрионов соответственно. Количество оставшихся культивируемых эмбрионов достоверно отличалось по группам (критерий Манна-Уитни, $p < 0,001$), что является естественным следствием определяемых ранее достоверных различий по числу ооцитов высокого качества, то есть большему количеству качественных ооцитов соответствовало большее число качественных эмбрионов на разных стадиях культивирования. Более высокое относительное количество некачественных эмбрионов наблюдалось в I группе, что вероятно опосредуется возрастной патологией, накоплением анеуплоидий и гормональных расстройств, приводящих к нарушению нормального развития эмбриона (рисунок

3.9).

У пациенток, получавших короткий протокол стимуляции, эмбрионы оценивались как отличные, хорошие и удовлетворительные в 96,1% случаев от всех оплодотворенных (рисунок 3.10). Тем не менее, общее число эмбрионов, сохраненных для культивирования, достоверно не отличалось между женщинами, получавшими разные схемы подготовки (Критерий Мана-Уитни, $p > 0,05$, по критерию Колмогорова-Смирнова нормальность распределения отвергалась).

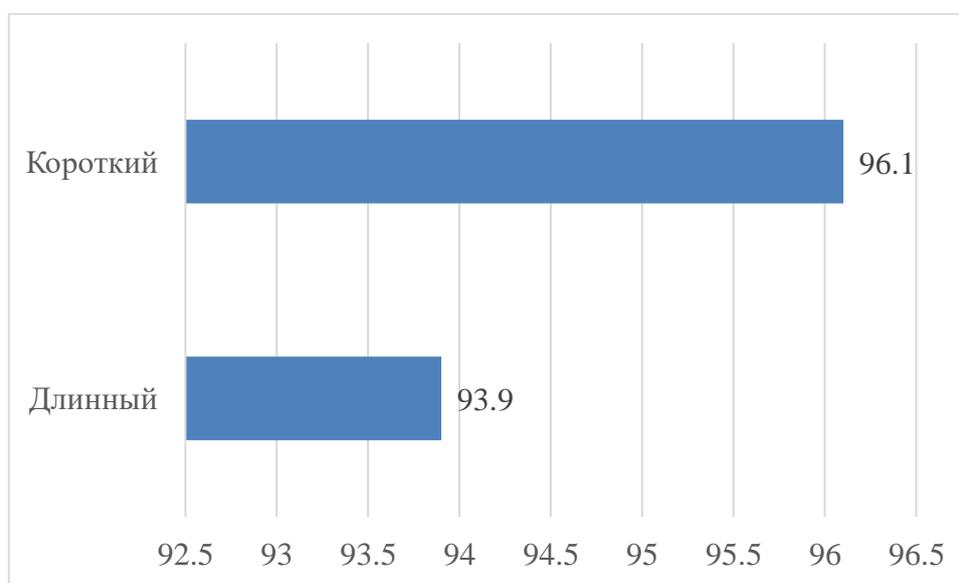


Рисунок 3.10 – Количество оставленных для дальнейшего культивирования эмбрионов после ревизии на 3-и сутки, %

Как видно из приведенных данных, короткий протокол стимуляции привел к более эффективному эмбриогенезу на ранних этапах культивирования, хотя это отличие и не было достоверным. Повторная оценка созревания эмбрионов на 5 сутки после оплодотворения (по Гарднеру) привела к дополнительному отсеvu эмбрионов ненадлежащего качества. На 929 оставшихся культивированных эмбрионов было отбраковано еще 89, в результате чего пригодными к эмбриопереносу оказались 840 эмбрионов. В первой группе оказалось 306 эмбрионов, пригодных для трансфера, а во второй – 534 подходящих эмбриона, что являлось статистически достоверным различием (критерий Манна-Уитни, $p < 0,001$). По отношению к количеству качественных эмбрионов, полученных сразу

после оплодотворения, содержание качественных эмбрионов к 5 дню культивирования составило 85,9%, в I группе это значение соответствовало 82,7%, а во II – 87,9%. Такое расхождение может быть связано с обусловленными возрастом дефектами ооцитов, которые невозможно было определить посредством морфологической оценки и в возникновении которых, возможно, играют роль анеуплоидии, частота которых увеличивается с возрастом женщины (рисунок 3.11).

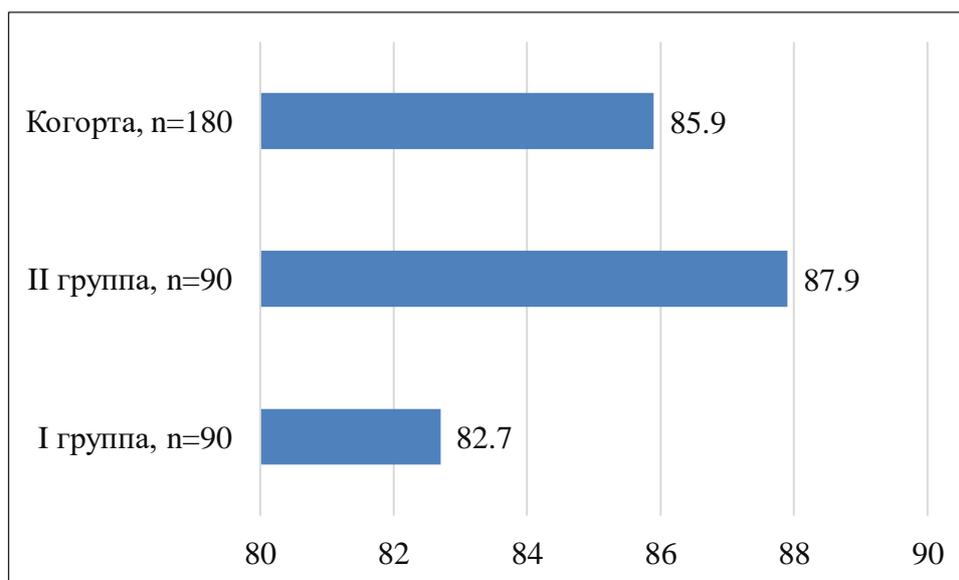


Рисунок 3.11 – Отношение числа эмбрионов хорошего качества по отношению к числу оплодотворенных ооцитов

Исследование распределения по Колмогорову-Смирнову отвергло нормальность распределения значений оценки качества эмбрионов. Статистический анализ данных выявил существенное различие между первой и второй группой по качеству эмбрионов (критерий Манна-Уитни, $p=0,018$). Таким образом, во II группе (моложе 35 лет) отмечалось более высокое качество эмбрионов. Применение того или иного протокола стимуляции не отразилось на качестве эмбрионов ($p=0,94$), которое зависело в основном от возраста, а зависимость качества эмбрионов от протокола стимуляции нами не была обнаружена.

Известно, что перенос криоконсервированных эмбрионов значительно увеличил возможности зачатия в циклах ЭКО и переноса. В настоящее время криоконсервация и криоперенос являются весьма распространенным и

безопасным методом увеличения кумулятивной частоты наступления беременности [50]. Повышение эффективности ЭКО с использованием криоциклов, очевидно, связано с более благоприятными условиями для имплантации эмбриона в нестимулированных циклах, с показателями, характерными для естественного цикла. По данным ретроспективного исследования, криоперенос был осуществлен у 21 (23,3%) пациентки I группы и у 10 (11,1%) пациенток II группы. Показанием к криопереносу у 12 (13,3%) пациенток I группы и у 8 (8,8%) – II группы явилась неудачная попытка ЭКО в анамнезе. В I группе у 2 (2,2%) пациенток и у 2 (2,2%) пациенток II группы показанием к криопереносу явился синдром гиперстимуляции яичников. У 9 пациенток I группы показанием к отсроченной подсадке эмбриона явилось наличие «тонкого» эндометрия (<5 мм) в ходе стимулированного цикла. У всех пациенток криоконсервация эмбрионов и криоперенос осуществлялись по стандартной методике с использованием эстроген-гестагенной поддержки МЦ.

3.7 Исходы ВРТ

В результате проведенного цикла ЭКО в когорте (по данным медицинской документации 180 женщин) клиническая беременность (по результатам лабораторных тестов и УЗИ) была установлена у 53 пациенток. В I группе беременность была диагностирована у 20 женщин (22,2%), а во II группе – у 33 (36,6%). Между двумя возрастными группами отмечались достоверные различия по количеству случаев беременности после процедур ВРТ (Хи-квадрат Пирсона, $p=0,034$) (рисунок 3.12). Известно, что с возрастом фертильность женщин снижается. Особенно ощутимо это снижение происходит в диапазоне 31-38 лет. По сравнению с 30-31-летними коэффициент плодовитости у 35-38-летних падает до 0,86; а в возрасте 42-44 года этот коэффициент падает до 0,39 [1, 2].

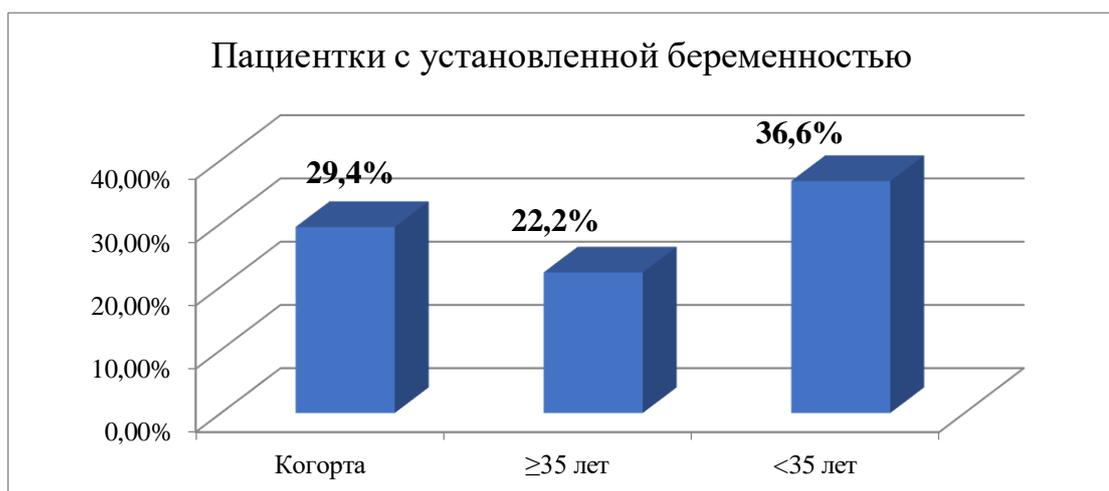


Рисунок 3.12 – Распределение пациенток с клинической (по данным УЗИ) беременностью (на перенос)

Внутри каждой из групп не наблюдалось различий в частоте беременности в зависимости от используемого протокола стимуляции (таблица 3.21).

Таблица 3.21 – Различие по частоте наступления беременности

Показатель	Когорта, n=180	
Частота	29,4% (53)	
Группы	I группа, n=90	II группа, n=90
Частота	22,2% (20)	36,6% (33)
P (Хи-кв.)	p=0,034	

Нам не удалось установить достоверных различий по частоте беременности среди женщин, получавших различные протоколы стимуляции. В обеих группах уровень значимости (Хи-квадрат Пирсона) превышал пороговые значения.

Из 180 обследованных женщин, прошедших через процедуру ВРТ, отмечалось 45 живорождений (рисунок 3.13). Среди них 13 женщин позднего репродуктивного возраста (I группа) и 32 женщины репродуктивного возраста (II группа). В I группе число родивших женщин было достоверно ниже по сравнению с женщинами II группы (14,4% против 35,5%, p=0,008). Это соответствует картине возрастного снижения фертильности и снижению числа беременностей у женщин старше 35 лет (рисунок 3.13).

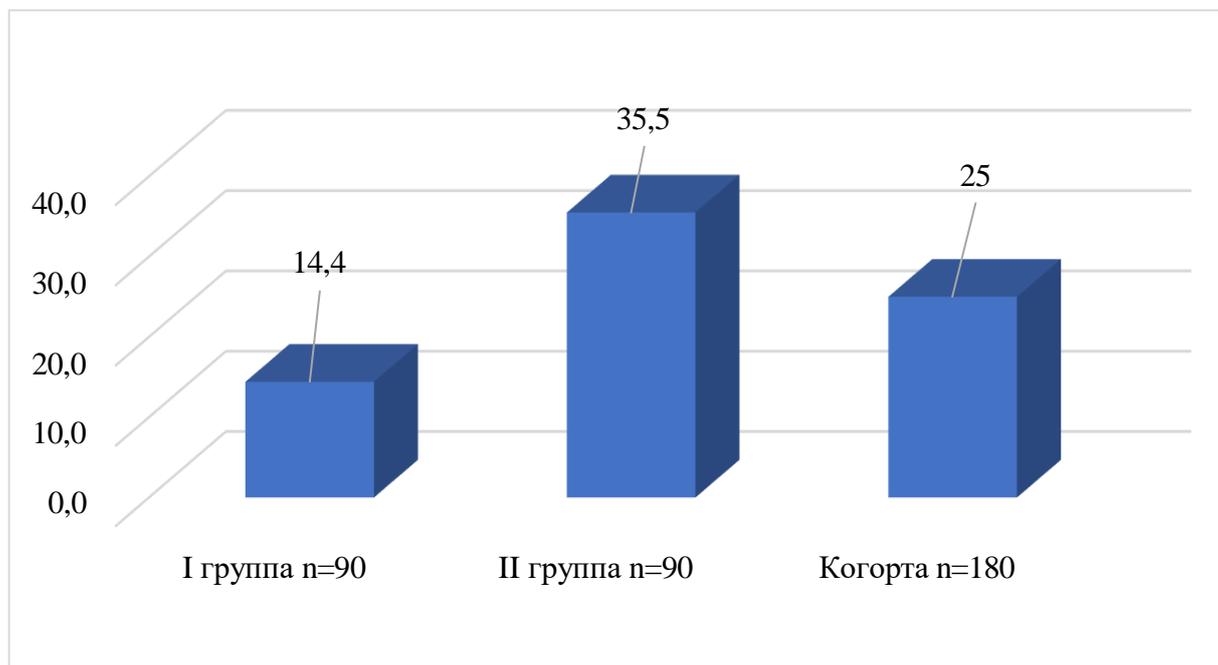


Рисунок 3.13 – Частота живорождения (от начатого цикла), %.

Обращал на себя внимание тот факт, что результативность циклов ВРТ была выше у пациенток с криопереносом эмбриона в обеих группах: I группа – 4 (28,5%) и II группа – 4 (40%) по сравнению с переносом эмбриона в стимулированном цикле (22,2% и 36,6%, соответственно). У всех пациенток с благополучными криопереносами беременность закончилась рождением доношенного ребенка.

Используя полученные документальные данные, мы оценили возможное влияние на исходы ЭКО таких показателей, как уровень ФСГ, ЛГ, пролактина, прогестерона, E2, АМГ, толщину эндометрия, количество полученных ооцитов, число качественных эмбрионов к 5 дню культивирования. Эти показатели были проверены на нормальность распределения (по Колмогорову-Смирнову).

Для ЛГ, АМГ, толщины эндометрия, числа ооцитов и качественных эмбрионов нормальность распределения отвергалась, различие между группами определялось с использованием критерия Манна-Уитни, в остальных случаях для межгрупповых сравнений применялся Т-критерий (таблица 3.22).

Таблица 3.22 – Содержание гормонов в двух возрастных группах в зависимости от исходов ЭКО

Группы	I группа, n=90		II группа, n=90	
	(+) берем	(-) берем	(+) берем	(-) берем
Беременность				
N	20	70	33	57
ФСГ, мМЕ/мл M±SD	9,09±1,74	10,63±2,59	8,99±1,92	8,60±2,79
p (+/- беременность)	0,455		0,471	
p (I и II группы)	0,008			
ЛГ, мМЕ/мл M±SD	9,83±2,25	7,82±2,45	7,92±1,72	8,05±2,37
p (+/- беременность)	0,045			
p (I и II группы)	0,011			
Пролактин, мМЕ/л M±SD	206,5±53,14	189,87±62,24	186,59±82,16	220,74±103,07
p (+/- беременность)	0,280		0,107	
p (I и II группы)	0,225			
Прогестерон, нмоль/л, M±SD	36,88±21,93	26,79±16,13	42,61±14,12	30,23±17,35
p (+/- беременность)	0,067		<0,001	
p (I и II группы)	0,030			
E2, пг/мл M±SD	335,55±169,42	288,84±137,92	280,19±137,34	289,75±147,15
p (+/- беременность)	0,208		0,762	
p (I и II группы)	0,547			

При применении методов описательной статистики нами не выявлено статистически значимых различий по уровню ФСГ среди беременных и небеременных женщин, что не позволяет определить данный параметр как предиктор наступления беременности, тем не менее, этот параметр оказался выше у пациенток позднего репродуктивного возраста (I группа) и нельзя исключать его опосредованного влияния на вероятность наступления беременности. В I группе у женщин с диагностированной беременностью отмечался статистически значимый

более низкий уровень ЛГ ($p=0,045$), который стимулирует гаметогенез и регулирует функцию желтого тела, создавая благоприятные условия для возникновения беременности. Однако при его повышении наблюдаются дизрегуляторные процессы естественного менструально-овариального цикла. Во II группе женщин различий по уровню ЛГ практически не отмечалось, $p=0,078$.

Прогестерон оказался ниже в I группе ($p=0,030$) и, особенно выраженное, статистически значимое снижение показателя было отмечено у пациенток I группы, имеющих отрицательный исход ЭКО. По уровню пролактина и эстрадиола существенных различий между возрастными группами и у женщин с разными исходами ВРТ не наблюдалось. Таким образом, наиболее достоверным признаком, связанным с исходом беременности внутри каждой группы, оказался уровень прогестерона. Уровень АМГ у женщин старше 35 лет (I группа) с доказанной беременностью был статистически значимо выше, чем при неуспешной процедуре ЭКО. В группе женщин до 35 лет (II группа) различий по уровню АМГ не наблюдалось вне зависимости от исхода ЭКО (таблица 3.23).

Таблица 3.23 – Параметры менструально-овариального цикла в зависимости от исхода ВРТ

Группы	I группа, n=90		II группа, n=90	
	(+) берем	(-) берем	(+) берем	(-) берем
Беременность				
N	20	70	33	57
АМГ, нг/мл ($M\pm SD$)	1,74 \pm 1,32	3,07 \pm 1,97	3,51 \pm 2,02	3,46 \pm 1,82
p	0,007		0,956	
	0,012			
Толщина эндометрия, мм $M\pm SD$	8,95 \pm 1,73	7,08 \pm 2,16	9,33 \pm 2,53	9,32 \pm 2,46
p	0,001		<0,001	
	0,009			
Число ооцитов, $M\pm SD$	9,20 \pm 3,53	8,10 \pm 3,49	12,42 \pm 4,37	9,82 \pm 4,12
p	0,225		0,004	
	<0,001			
Число эмбрионов к 5 дню, $M\pm SD$	3,55 \pm 1,36	3,36 \pm 1,60	6,85 \pm 3,47	5,40 \pm 2,40
p	0,308		0,055	
	<0,001			

В I группе толщина эндометрия была выше у женщин с подтвержденной беременностью, и разница в толщине эндометрия между пациентками I и II групп была достоверной ($p=0,009$). Во II группе число ооцитов и качественных эмбрионов к 5 дню дробления было выше в случае наступления беременности ($p<0,001$).

В активном репродуктивном возрасте исход ВРТ больше зависит от эффективности гаметогенеза и качества самого эмбриона (таблица 3.24).

Таблица 3.24 – Наличие проведения прегравидарной подготовки в зависимости от исхода ВРТ

Группы	I группа, n=90		II группа, n=90		Когорта, n=180	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Беременность						
N	20	70	33	57	53	127
Эстроген-гестагенный прайминг	15	13	8	6	23	19
УЗ-кавитация полости матки	13	3	12	3	25	6
PRP терапия	4	1	4	2	8	3
Физиотерапия (магнитотерапия, лазеротерапия)	4	1	3	3	7	4

Как показал анализ, наличие прегравидарной подготовки, учитывающей определенные патогенетические моменты и повышающей качество эндометрия, коррелирует ($r=0,78$) с результативностью цикла ЭКО как у пациенток I, так и II группы. Наиболее эффективным, стало сочетание эстроген-гестагенного прайминга, УЗ-кавитации полости матки и PRP-терапии у пациенток с «тонким эндометрием». Однако малое количество наблюдений, связанное с тем, что специфическую прегравидарную подготовку в целом проводят только в одной трети случаев, не позволяет делать об этом адекватные выводы.

Таким образом, проведенное нами ретроспективное исследование обнаружило множественные признаки, способствующие нарушению фертильности у пациенток позднего репродуктивного возраста. У них абсолютно закономерно наблюдались более продолжительные периоды бесплодия ($9,02\pm 4,51$ против $4,51\pm 1,74$ лет) и повышенная частота вторичного бесплодия (28,3% против 6,1%).

Кроме того, у них достоверно чаще выявлялись гиперпластические процессы эндометрия и миометрия. Уровни ЛГ в I группе были повышенные по сравнению со II-ой, и это может свидетельствовать о дисрегуляции гипофизарно-яичниковой оси менструально-овариального цикла. Одним из следствий этого было снижение уровня прогестерона в крови женщин позднего репродуктивного возраста ($29,03 \pm 17,95$ нмоль/л против $34,77 \pm 17,24$ нмоль/л). Также у них отмечалось сильное снижение уровня АМГ ($2,78 \pm 1,92$ нг/мл против $3,48 \pm 1,89$ нг/мл), свидетельствующее о снижении репродуктивного потенциала яичников. Толщина эндометрия у 57 (63,3%) пациенток позднего репродуктивного возраста была достоверно меньше, что указывает на худшую подготовку слизистой матки к беременности, чем у женщин репродуктивного возраста.

Снижение овариального резерва наблюдалось у 33,3% женщин в I группе и только у 3,3% во II. Уровень рецепторов половых гормонов достоверно отличался между группами: он был снижен для эстрогеновых рецепторов и повышен для прогестероновых у женщин I группы. Такая картина может быть следствием соответствующего изменения уровня эстрогенов и прогестеронов в крови женщин.

Для остальных клеточных маркеров не удалось выявить значительных различий между группами. Также не удалось выявить абсолютно преобладающего воспалительного фактора у пациенток позднего репродуктивного возраста. По некоторым параметрам, более высокая частота воспалительных процессов была выявлена именно у пациенток раннего репродуктивного возраста (II группа).

В целом, выполненное исследование говорит о том, что среди обследуемых женщин в позднем фертильном периоде имеет место достаточно широкий спектр возможных механизмов, нарушающих разнообразные этапы зачатия и самой беременности. Выявлено потенциальное влияние овариального (снижение количества и качества ооцитов) фактора, а также эффект воспалительных и гормональных нарушений, приводящих к цитокиновой, клеточной, молекулярной дисрегуляции имплантационного фактора эндометрия, что делает нереальными физиологические репродуктивные механизмы на всех этапах. Имевшиеся в прошлом у некоторых женщин неудачные попытки ЭКО/ИКСИ подтверждают

сделанные выводы.

Протокол стимуляции существенно не влиял на количество и качество ооцитов и эмбрионов, а также на частоту наступления клинической беременности ($p > 0,05$) и частоту живорождения.

Перенос криоконсервированного эмбриона, по нашим данным и данным отчета РАРЧ (2022), приводит к увеличению результативности ЭКО, в том числе, у пациенток позднего репродуктивного возраста, так как в стимулированном цикле имеет место нарушение синхронизации «окна имплантации» вследствие преждевременного созревания эндометрия, нарушение экспрессии рецепторов к эстрадиолу и прогестерону в эндометрии [32]. Результаты данного раздела исследования изложены в публикациях автора [49, 56, 68].

Конечный успех процедур ВРТ складывается из множества факторов, тем более в позднем репродуктивном возрасте, когда кроме накопленной соматической и имеющейся гинекологической патологии главным и доминирующим фактором, который на сегодня не способны преодолеть технологии ЭКО, считается физиологическое репродуктивное старение. Данный фактор затрагивает гипофизарные зоны (рост ФСГ и ЛГ), яичниковую функцию (прогрессивное снижение числа примордиальных фолликулов, «бедный ответ на стимуляцию, снижение уровня эстрадиола в яичниках) и маточные циклы (нарушение менструального цикла, снижение рецепторной активности и толщины эндометрия). К факторам, влияющим на старение человека, в том числе и репродуктивное, относят оксидативный стресс, приводящий к изменению мембран клеток, дезорганизации и ориентации белков в тканях, митохондриальным нарушениям. Весьма распространена концепция эндокринной периодизации онтогенеза, постулирующая недостаточность выработки и рецепции центральных и периферических гормонов (мелатонин, гипофизарные гормоны, гормоны щитовидной железы, антистрессорные системы). Накопление мутаций в ДНК приводит к нарушениям в работе клеток, что является основным механизмом старения, в первую очередь затрагивая репродуктивный потенциал [51].

Учитывая, что стандартное обследование перед процедурой ВРТ не включает многие параметры из перечисленных и многие данные из медицинской документации были статистически неоднородны, для нахождения признаков патогенетического подобия между исследуемыми объектами (пациентами) следует увеличить когорту пациенток и число анализируемых факторов в позднем репродуктивном возрасте. В качестве основного статистического метода требуется применить процедуру кластеризации, приводящую к объединению объектов в подмножества (кластеры) по установленным признакам подобия.

Уточнение патогенетических вариантов развития инфертильности в позднем репродуктивном возрасте позволит персонифицировать прегравидарную подготовку к циклу ЭКО, что в конечном итоге – повысит эффективность ЭКО у данной когорты женщин.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1 Выделение «возможных» подгрупп пациенток из основной группы с помощью кластерного анализа

Несмотря на безусловное влияние накопленной с возрастом гинекологической и соматической патологии на возможность выполнения детородной функции у женщин позднего репродуктивного возраста, неоспорим тот факт, что возраст является одной из существенных причин сложности ее реализации у данной группы пациенток.

Далее на проспективном этапе исследования в условиях тех же лечебных учреждений за период 2019-2023 г.г. были обследованы 302 женщины (1 (основная) группа), возраст которых был не менее 35 лет, с поставленным первично диагнозом «бесплодие» длительностью до 4-х лет, имеющих положительный гинекологический и акушерский анамнез, проходившие процедуру ЭКО с отрицательным результатом. При этом запоздалое желание иметь детей в данной группе было обусловлено одной или несколькими причинами: построение карьеры, личное нежелание иметь детей, отсутствие полового партнера, неудачный ранний брак и другие. Был также проведен отбор 50 здоровых женщин 25-34 лет (2 группа (контрольная)), которые состояли на амбулаторном учете в рамках программы суррогатного материнства.

Мультипараметрический характер этиопатогенеза бесплодия в группе здоровых женщин позднего репродуктивного возраста предполагает использование методов многомерной статистики для выделения относительно однородных групп испытуемых, различающихся по главенствующим причинам нарушения естественной фертильности и отсутствия положительных результатов проведенной первой попытки ЭКО с целью дальнейшей разработки методов дифференцированной терапии.

В связи с этим предстояло найти и выделить подгруппы больных из основной группы пациенток с бесплодием позднего репродуктивного возраста, различающихся по совокупности показателей, и определить характер различий и возможные диагностические критерии нарушения фертильности в каждой из этих отдельных подгрупп.

Так как в нашем случае отсутствовала априорная информация о принадлежности объектов (пациентов) к определенному классу (кластеру, подгруппе), то основной задачей стало разделение исходной совокупности объектов на некоторое число классов с одновременным определением их числа.

Оптимальным статистическим методом для решения этой задачи было последовательное использование процедур дискриминантного и кластерного анализа. Приемлемость данного метода состоит в том, что помимо вычисления количества отдельных локальных подмножеств (кластеров, подгрупп), в ходе анализа поступенчато формируется понимание «гомогенности» этих подмножеств.

Основной подход к решению последней проблемы состоит в интерпретации каждого из исходных объектов (пациентов) в качестве точки в многомерном признаковом пространстве. Естественно предположить, что геометрическая близость двух или нескольких точек в этом пространстве означает близость «физических» состояний соответствующих объектов (или «клинических» состояний пациентов).

Задача кластеризации состоит в разделении анализируемой исходной совокупности точек-наблюдений таким образом, чтобы объекты, принадлежащие одному классу, находились в среднем ближе друг к другу, чем к точкам других классов.

Этапами нашего статистического поиска в первую очередь стал разведочный и детальный анализ первичных данных, дискриминантный анализ и основная процедура кластеризации и описание выделенных этиопатогенетических групп.

В качестве исходных данных для проведения дискриминантного анализа использовались показатели предварительного обследования: возраст пациенток, показатели гормонального фона (ФСГ, ЛГ, эстрадиол, пролактин, прогестерон),

содержание АМГ в сыворотке крови, число антральных фолликулов по данным УЗИ, толщина эндометрия в среднюю лютеиновую фазу, а также параметры фолликуло- и оогенеза, полученные в предыдущем цикле стимуляции: общее количество фолликулов, общее количество аспирированных ооцитов, среднее число ооцитов МП, количество незрелых ооцитов, среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов (2PN), среднее число бластоцист на пациентку, среднее число бластоцист отличного/хорошего качества (таблица 4.1).

Признак считался высокоинформативным, если условной величиной канонического коэффициента стандартизованной дискриминантной функции (КСДФ) принято значение выше 0,5.

Проблема неоднородности единиц измерения признаков была решена при помощи предварительной стандартизации переменных – вычисление Z-вклада или стандартизованного вклада по формуле:

$$Z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{\sigma} \quad (1)$$

где,

x_i – значение данного наблюдения;

\bar{x} – среднее;

σ – стандартное отклонение.

Из дискриминантного анализа следует, что набор наиболее информативных признаков для проведения кластерного анализа составляют 15 признаков, указанных в таблице 4.1.

Далее использовался иерархический агломеративный метод кластеризации, результаты которого оформлены в виде дендрограммы (рисунок 4.1).

Таблица 4.1 – Стандартизированные канонические коэффициенты дискриминантной функции информативных показателей

Информативные показатели	Коэффициент стандартизированной дискриминантной функции (КСДФ)
Возраст пациенток	0,246
Длительность бесплодия	0,156
Неудачные попытки ЭКО в анамнезе	0,012
ФСГ, мМЕ/мл	1,243*
ЛГ, мМЕ/мл	1,682*
Эстрадиол, пг/мл	3,124*
Прогестерон, нмоль/л	2,467*
Пролактин, мМЕ/л	0,234
АМГ, нг/мл	2,386*
Число антральных фолликулов по данным УЗИ исследования, абс.	2,351*
Толщина эндометрия в среднюю лютеиновую фазу, мм	2,367*
Общее количество фолликулов, полученных в предыдущем цикле стимуляции, абс.	3,276*
Общее количество аспирированных ооцитов, абс.	3,257*
Среднее число ооцитов МП, абс.	2,972*
Количество незрелых ооцитов, абс.	1,353*
Среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов (2PN), абс.	2,475*
Среднее число бластоцист на пациентку, абс.	2,483*
Среднее число бластоцист отличного/ хорошего качества, абс.	2,268*

П р и м е ч а н и е - * – отмечены величины КСДФ > 0,5

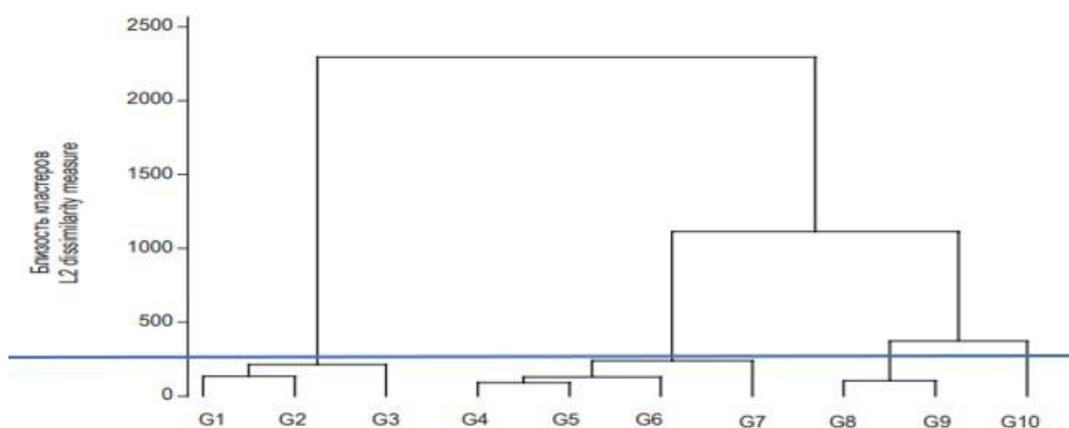


Рисунок 4.1 – Дендрограмма иерархической классификации пациенток позднего репродуктивного возраста (примечание: по оси абсцисс – объединяемые объекты, по оси ординат – близость кластеров)

Приведенные рисунки свидетельствуют, что выборка пациенток (группа 1) с бесплодием в старшем репродуктивном возрасте по совокупности анализируемых показателей отчетливо разделяется на три кластера или 3 подгруппы:

- 1А-подгруппа – 62 женщины, у которых в структуре бесплодия доминировал ооцитарный фактор бесплодия (при достаточном количестве фолликулов и полученных ооцитов, отсутствовало оплодотворение ооцитов или получались патологические формы непригодные к переносу);

- 1В-подгруппа – 73 женщины, с преобладанием имплантационной несостоятельности эндометрия в отсутствии признака «тонкий» эндометрий как причины бесплодия;

- 1С-подгруппа – 167 женщин, у которых сочетались овариальный фактор («бедный ответ») и имплантационная несостоятельность эндометрия («тонкий эндометрий»).

В дальнейшем мы провели подробный сравнительный описательный анализ с использованием центров значения кластеров как в основной группе, так и внутри подгрупп, позволивший нам интерпретировать анамнестические данные и данные, введенные нами в дополнительное обследование.

4.2 Анализ анамнестических данных

Средний возраст обследованных женщин равнялся $37,8 \pm 5,63$ лет. Подробное возрастное распределение среди групп и подгрупп представлено в нижеприведенной таблице (таблица 4.2). Наблюдаются достоверные различия по возрасту между 1 и 2 группами ($p < 0,05$), что определяется критериями распределения по группам. Внутри первой группы наблюдались достоверные возрастные различия между подгруппами 1В и 1А ($p < 0,001$) и 1В и 1С ($p < 0,001$). Возможно, эта причина объясняет отсутствие у пациенток подгруппы 1В явных признаков нарушения яичникового фактора. Максимально возрастными были пациентки подгруппы 1С, средний возраст которых составил $38,2 \pm 3,92$ года, возможно и обеспечивающий у данных пациенток совокупное снижение репродуктивного потенциала (овариальный фактор - сниженный резерв и «бедный» ответ на триггеры и имплантационная недостаточность эндометрия).

Таблица 4.2 – Возрастное распределение обследованных пациенток (лет)

	Все обследуемые (n = 352)		
M±SD	37,38±5,63		
Группа (n)	1 группа (n = 302)		2 группа (n = 50)
M±SD	38,7±3,23		29,3±2,92
Подгруппы (n)	1А (n = 62)	1В (n = 73)	1С (n = 167)
M±SD	37,6±3,01	36,4±3,28	38,2±3,92

Анализ анамнестических данных показал неравномерное распределение ряда данных в исследуемых группах. Общая средняя продолжительность бесплодия у пациенток 1 группы равнялась $1,9 \pm 1,83$ года. Продолжительность бесплодия для подгрупп внутри 1 группы приведена ниже (таблица 4.3).

Внутри 1 группы отмечено достоверное различие по продолжительности времени бесплодия между пациентками подгруппами 1А и 1С ($p < 0,001$) и подгруппами 1В и 1С ($p < 0,001$).

Таблица 4.3 – Продолжительность бесплодия (лет)

Группа (n)	1 группа (n = 302)		
M±SD	12,33±4,67		
Подгруппы (n)	1A (n = 63)	1B (n = 72)	1C (n = 167)
M±SD	1,5±1,71	1,5±1,52	1,9±1,80

Анализ становления и характера менструальной функции в исследуемой когорте показал отсутствие статистических различий по возрасту менархе между подгруппами (таблица 4.4). По отдельным видам нарушений внутри первой группы статистические отличия не были значимыми ($p > 0,05$) (таблица 4.4). При сборе гинекологического анамнеза у пациенток 1 группы отмечены дисбиозы и ИППП у 118 (39,1%) пациенток, эктопия цилиндрического эпителия на шейке матки у 76 (25,2%) пациенток, тогда как других гинекологических заболеваний не отмечалось. Также были проанализированы анамнестические данные, указывающие на те или иные нарушения менструальной функции. Всего в обследуемой когорте было выявлено общее число менструальных нарушений у 102 пациенток (33,8%): дисменорея у 74 женщины (24,5%), обильные менструальные кровотечения (ОМК) у 28 женщин (9,3%).

Таблица 4.4 – Значения возраста менархе и уровень значимости по критерию Манна-Уитни (лет)

Показатель	1 группа (n = 302)			2 группа, (n = 50)
	1A подгруппа, n=62	1B подгруппа, n=73	1C подгруппа, n=167	
M±SD	13,2±2,22	13,3±1,93	13,6±1,92	13,2±2,25
M±SD	13,5±2,04			
1-2 группы, p	0,150			
1A-2, p	0,961			
1B-2, p	0,542			
1C-2, p	0,151			

Для всей когорты средняя продолжительность менструального цикла равнялась 29,8±4,27 дням. Статистической разницы по результатам для 1 и 2 групп и подгрупп выявлено не было (таблица 4.5).

Таблица 4.5 – Продолжительность менструального цикла в когорте (уровень значимости по критерию Манна-Уитни) (дни)

Показатель	1 группа (n = 302)			2 группа (n = 50)
	1A подгруппа, n=62	1B подгруппа, n=73	1C подгруппа, n=167	
M±SD	29,5±4,45	29,5±4,20	29,3±4,68	29,7±2,92
M±SD	29,1±4,45			
1-2 группы, p	0,212			
1-2, p	0,311			
1A-2, p	0,331			
1B-2, p	0,256			
1C-2, p	0,376			
1A-1B, p	0,328			
1A-1C, p	0,276			

Соматический анамнез у пациенток также не был отягощен заболеваниями, влияющими на возможность реализации репродуктивной функции. Однако ожидаемо чаще соматическая патология выявлялась у более возрастных пациенток 1 группы (рисунок 4.2).

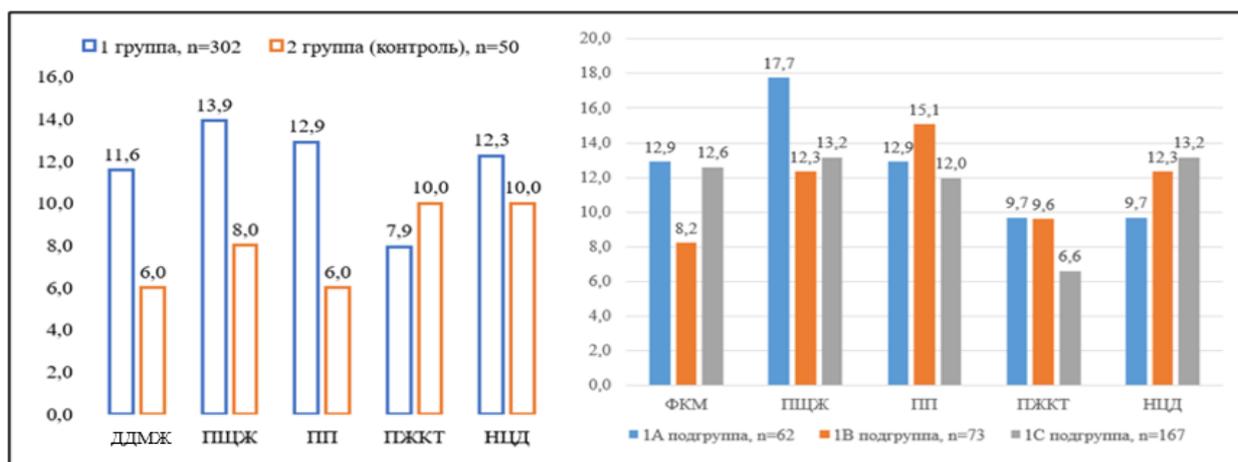


Рисунок 4.2 – Распределение соматической патологии по группам и подгруппам, в % от численности группы (ДДМЖ - дисгормональная дисплазия молочных желез, ПЩЖ – патология щитовидной железы, ПП – патология почек, ПЖКТ – патология желудочно-кишечного тракта, НЦД – нейроциркуляторная дистония)

Так статистически значимо чаще у пациенток первой группы была выявлена ДДМЖ ($p < 0,001$) и патология щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит и гипотиреоз на момент ВРТ компенсированный), ($p = 0,003$). Наблюдались

статистически не значимые отличия по наличию почечной патологии (хронический пиелонефрит в стадии ремиссии) ($p=0,903$), болезней желудочно-кишечного тракта (хронический гастрит, панкреатит, холецистит), ($p=0,518$), частота нейроциркуляторной дистонии, ($p=0,309$) не показала статистически значимых различий в 1 группе по сравнению с группой контроля.

4.3 Результаты лабораторно-инструментальных исследований

Все женщины прошли обследование в соответствии с клиническими рекомендациями Минздрава РФ. В основное обследование включали общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимическое исследование, определение уровня половых гормонов, УЗИ.

4.3.1 Результаты лабораторных исследований в ходе предыдущего неудачного цикла ЭКО

Результаты общего анализа крови не выявили значимых расхождений между подгруппами (таблица 4.6).

Таблица 4.6 – Параметры общего анализа крови ($M \pm SD$)

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
Гемоглобин, г/л	133,7± 9,17	132,9± 9,82	134,4± 8,80	133,9± 8,86	131,5± 9,13
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,5± 1,66	6,4± 1,72	6,8± 1,60	6,4± 1,63	6,5± 1,60
СОЭ, мм/ч	8,6± 4,56	8,5± 4,60	8,5± 4,42	8,8± 4,7	8,5± 4,92

По уровню гемоглобина отмечается достоверное снижение среднего значения во 2 группе по сравнению с 1-ой ($p=0,029$). Легкая степень анемии обнаружена у 39 (12,9%) женщин 1 группы и у 7-ми (14,0%) 2 группы ($p=0,628$). Всем пациенткам с анемией была назначена коррекция железодефицита и на

момент проведения ВРТ анемия была компенсирована. Расхождение между подгруппами внутри первой группы не были статистически значимыми ($p>0,05$). По данным клеточного состава (лейкоциты и тромбоциты), данных лейкоцитарной формулы и СОЭ статистически значимых различий между группами не наблюдалось ($p>0,05$). Данные биохимического тестирования также не показали статистически значимых различий между группами и внутри 1 группы ($p>0,05$) для всех параметров (таблица 4.7).

Таблица 4.7 – Параметры биохимического анализа крови ($M\pm SD$)

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
Глюкоза, ммоль/л	3,4±1,14	3,4±1,21	3,3±1,05	3,4±1,16	3,9±0,82
Холестерин, ммоль/л	4,5±1,12	4,6±1,07	4,4±1,19	4,4±1,09	4,1±0,85
АСТ, ед/л	23,4±10,97	23,4±11,54	22,9±11,49	23,8±9,88	22,6±9,66
Общий билирубин, мкмоль/л	10,6±4,56	10,6±4,57	10,3±4,36	10,5±4,78	9,9±3,91
Креатинин, мкмоль/л	55,5±14,38	55,6±13,80	56,3±13,96	54,8±15,44	55,5±10,32

При анализе гормонального фона выявлено, что уровень гипофизарных и яичниковых гормонов у всех пациенток не выходил за рамки референсного интервала относительно возраста пациенток, но при этом нами были отмечены межгрупповые и внутригрупповые различия по уровню гормонов. Поскольку нормальность распределения по критерию Колмогорова-Смирнова отвергалась ($p>0,05$), группы и подгруппы сравнивались с использованием Т-критерия для независимых выборок. При анализе уровня ФСГ выявлено, что его среднее значение у пациенток 1 группы было статистически значимо выше, чем во 2 группе ($p<0,001$) (таблица 4.8), с максимальным увеличением у пациенток 1С подгруппы до 11,8±4,1 МЕ/л.

Сравнение 1А и 1В подгрупп также показало достоверное различие по уровню ФСГ ($p=0,008$). Истощение овариального резерва, прогрессивно нарастающее в позднем репродуктивном возрасте и перименопаузе, объясняет достоверно значимо более высокие значения ФСГ в 1С-подгруппе с наличием у пациенток

сниженного овариального резерва и «бедного» ответа яичников в анамнезе. При этом между подгруппами 1А и 1С, а также между 1В-подгруппой и группой контроля хотя и наблюдались статистически значимые различия, однако разница в уровнях ФСГ была значительно менее выраженная.

Таблица 4.8 – Содержание ФСГ, мМЕ/мл, в сыворотке крови пациенток и уровень значимости р (парный Т-критерий для независимых выборок)

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
М±SD	9,1±1,18	7,9±2,10	7,8±2,39	11,8±4,10	5,5±1,63
1-2, р	<0,001				
1А-2, р	<0,001				
1В-2, р	0,076				
1С-2, р	<0,001				
1А-1В, р	0,063				
1А-1С, р	<0,001				
1В-1С, р	<0,001				

При анализе сывороточного уровня ЛГ предположение о нормальном распределении в тесте Колмогорова-Смирнова было отвергнуто ($p < 0,05$) и сравнение проводилось с использованием критерия Манна-Уитни (таблица 4.9).

Таблица 4.9 – Концентрация ЛГ, мМЕ/л в сыворотке крови

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
М±SD	10,8±3,37	9,4±3,15	9,8±3,55	11,4±3,42	7,6±3,48
1-2, р	0,013				
1А-2, р	0,003				
1В-2, р	0,072				
1С-2, р	<0,001				
1А-1В, р	0,031				
1А-1С, р	<0,001				
1В-1С, р	<0,001				

Первая и вторая группы достоверно отличались по средним значениям ЛГ в сыворотке крови ($p = 0,013$), в основном за счет показателей пациенток в 1С-подгруппе, у которых уровни ЛГ были достоверно выше, чем в контрольной группе

($p < 0,001$).

В подгруппах 1А и 1В значения ЛГ достоверно различались, $p = 0,031$. Исходно высокие значения эндогенного ЛГ могут быть критичными для нормальной и стимулированной овуляции, а также для правильной синхронизации стадии развития эмбриона и морфологии эндометрия.

Пролактин является важным гормоном гипофиза, повышение которого способно блокировать овуляцию и снижать полноценность лютеиновой фазы МЦ, контролируя секрецию прогестерона (таблица 4.10).

Таблица 4.10 – Содержание пролактина, мМЕ/л, в сыворотке крови пациенток

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	235,45± 67,36	240,09± 59,51	234,64± 71,74	231,52± 70,69	239,46± 59,96
1-2, p	0,529				
1А-2, p	0,941				
1В-2, p	0,606				
1С-2, p	0,392				
1А-1В, p	0,452				
1А-1С, p	0,376				
1В-1С, p	0,387				

При анализе уровней пролактина нормальное распределение не было отвергнуто ($p > 0,05$) и сравнение между группами проводили с использованием Т-критерия для независимых выборок. Полученные нами данные свидетельствуют об отсутствии достоверных различий между группами (таблица 4.10).

Эстрадиол (Е2) играет ключевую роль в функционировании женской репродуктивной системы, обеспечивая прегравидарную подготовку эндометрия, усиливая синтез собственных рецепторов и рецепторов к прогестерону. Содержание эстрадиола в сыворотке крови отражает адекватность стимуляции овуляции и степень зрелости фолликулов. Известно, что уровень эстрадиола в циклах ЭКО положительно коррелирует с числом полученных ооцитов и эмбрионов хорошего качества, с увеличением числа благополучных имплантаций и снижением частоты прерывания беременности.

В нашем исследовании проверка в тесте Колмогорова-Смирнова не опровергала нормальное распределение и данные по концентрации E2 были обработаны с использованием парного Т-критерия. В результате было обнаружено достоверное расхождение по уровням средне-групповых значений между данными подгруппы 1С и данными пациенток подгрупп 1В, 1А и контрольной группы (таблица 4.11).

Таблица 4.11 – Концентрация E2, пг/мл, (эстрадиола) в сыворотке крови пациенток

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	222,8±39,99	257,7±41,44	247,5±38,66	153,2±41,04	250,6±26,98
1-2, p	0,850				
1А-2, p	0,749				
1В-2, p	0,415				
1С-2, p	<0,001				
1А-1В, p	0,458				
1А-1С, p	<0,001				
1В-1С, p	<0,001				

Уровень E2 у пациенток подгруппы 1С был статистически значимо ниже, однако находился в пределах референсных значений.

Прогестерон является модулятором нормального и своевременного созревания эндометрия. Повышение уровня системного прогестерона после овуляции подавляет эстроген-индуцированную пролиферацию эпителия эндометрия, что приводит к переходу эпителия из пролиферативного в дифференцированное состояние и временному переходу в состояние секреции, благоприятное для прикрепления и инвазии эмбриона [54]. Уровень прогестерона периферической крови определяли в среднюю секреторную фазу (таблица 4.12).

Для полученных данных не было отвергнуто нормальное распределение и расчеты велись с использованием парного Т-критерия. При сравнении средних значений было обнаружено, что средние значения уровня прогестерона в 1 группе были достоверно ниже, чем во 2 группе ($p=0,003$), причем сравнение каждой из подгрупп (1А, 1В, 1С) со значениями группы контроля также продемонстрировало

достоверные различия. Самые низкие средние значения были отмечены в 1С-подгруппе ($24,6 \pm 14,4$ нмоль/л).

Таблица 4.12 – Концентрация прогестерона, нмоль/л, в сыворотке крови

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M \pm SD	29,6 \pm 15,8	30,7 \pm 16,2	31,4 \pm 16,9	24,6 \pm 14,4	34,9 \pm 18,39
1-2, p	0,003				
1А-2, p	0,015				
1В-2, p	0,009				
1С-2, p	<0,001				
1А-1В, p	0,255				
1А-1С, p	<0,001				
1В-1С, p	<0,001				

Уровень АМГ в организме женщины продуцируется клетками гранулезы преантральных и антральных фолликулов и определяет количество фолликулов в яичнике на стадии, предшествующей гормонозависимому периоду роста. АМГ участвует в регуляции инициации роста фолликулов, устанавливает чувствительность яичников к ФСГ и протектирует избыточное митогенное влияние ФСГ на гранулезу растущих фолликулов.

Содержание АМГ в сыворотке крови коррелирует с овариальным резервом у женщины и служит одним из маркеров возможности наступления как спонтанной, так и индуцированной беременности [64].

Анализ уровня АМГ выявил достоверные различия между группами (таблица 4.13).

Таблица 4.13 – Концентрация АМГ, нг/мл, в сыворотке крови пациенток

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	1,6±0,81	3,9±0,42	3,1±0,93	1,4±0,79	5,2±1,26
1-2, p	<0,001				
1А-2, p	<0,001				
1В-2, p	<0,001				
1С-2, p	<0,001				
1А-1В, p	<0,001				
1А-1С, p	<0,001				
1В-1С, p	<0,001				

Так в 1 группе наблюдаются достоверно сниженные по сравнению со 2 группой средних значений ($p < 0,001$). Самым низким уровнем АМГ был в 1С-подгруппе ($1,4 \pm 0,79$ нг/мл), у женщин с недостаточным овариальным фактором (сниженный фолликулярный резерв и «бедный» ответ на стимуляцию яичников) и с несостоятельностью имплантационного фактора. Тем не менее, в 1В-подгруппе, с преобладанием имплантационного фактора эндометрия, также наблюдались статистически значимо сниженные показатели АМГ по сравнению с группой контроля ($3,1 \pm 0,93$ нг/мл против $5,2 \pm 1,26$ нг/мл ($p < 0,001$)), что, по-видимому, является следствием возрастного снижения активности яичников и уменьшения числа созревающих фолликулов. При этом уровень АМГ у пациенток 1А-подгруппы был статистически значимо выше, чем в 1В ($p < 0,001$) и 1С подгруппах ($p < 0,001$).

4.3.2 Результаты инструментального исследования

УЗИ с проведением доплерометрии маточных сосудов (маточная артерия) в нашем исследовании служило одним из стратификационных методов разделения пациенток на соответствующие подгруппы. Визуальной патологии эндометрия, миометрия и яичников у пациенток, входивших в наше исследование, выявлено не было.

Количество антральных фолликулов было минимально у пациенток 1С-

подгруппы ($3,4 \pm 1,8$, $p < 0,001$) по сравнению с группой контроля ($9,5 \pm 1,8$), что соответствовало признакам сниженного овуляторного резерва и прогнозировало бедный овуляторный ответ. В 1В-подгруппе количество антральных фолликулов также было статистически ниже результатов контрольной группы ($7,4 \pm 1,7$, $p < 0,001$), хотя и не соответствовало критериям неблагоприятного прогноза наступления беременности согласно классификации POSEIDON. Результаты 1А-подгруппы и группы контроля статистически значимо не отличались ($p = 0,548$), несмотря на наличие неудачной попытки ЭКО в анамнезе. В целом ультразвуковая оценка функционирования яичников в 1 группе статистически значимо отличалась от данных группы контроля (таблица 4.14).

Таблица 4.14 – Данные ультразвукового исследования женских половых органов обследуемых пациенток (количество антральных фолликулов (КАФ))

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	$5,7 \pm 1,8$	$9,2 \pm 1,7$	$7,4 \pm 1,7$	$3,4 \pm 1,8$	$9,5 \pm 1,8$
1-2, p			0,446		
1А-2, p			0,548		
1В-2, p			<0,001		
1С-2, p			<0,001		
1А-1В, p			<0,001		
1А-1С, p			<0,001		
1В-1С, p			<0,001		

При ультразвуковой визуализации в овуляторную фазу признаки овуляции наблюдались у 25 (40,3%) пациенток 1А-подгруппы. В подгруппах 1В и 1С патогномичных признаков, указывающих на произошедшую овуляцию отмечено не было. При этом наличие желтого тела отмечалось у 109 (36,1%) пациенток 1 группы.

Обращал на себя внимание тот факт, что толщина эндометрия в момент средней фазы секреции у пациенток 1 группы была статистически значимо меньше $8,2 \pm 2,5$ мм против $13,4 \pm 1,2$ мм, в основном за счет пациенток 1С- подгруппы, $p < 0,001$. У пациенток 1С-подгруппы М-ЭХО составляло $5,4 \pm 1,2$ мм, что соответствовало определению «тонкий эндометрий» ($p < 0,001$ при сравнении со

всеми подгруппами). У 1А-подгрупп и 1В-подгрупп толщина эндометрия составляла $9,8\pm 1,7$ мм и $9,4\pm 1,6$ мм соответственно, что статистически значимо отличалось от группы контроля – $13,4\pm 1,2$ ($p<0,001$), однако оценивалось как удовлетворительный имплантационный потенциал (таблица 4.15).

Таблица 4.15 – Данные ультразвукового исследования женских половых органов обследуемых пациенток (толщина эндометрия, мм)

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	8,2±2,5	9,8±1,7	9,4±1,6	5,4±1,2	13,4±1,2
1-2, p	<0,001				
1А-2, p	<0,001				
1В-2, p	<0,001				
1С-2, p	<0,001				
1А-1В, p	0,034				
1А-1С, p	<0,001				
1В-1С, p	<0,001				

4.3.3 Особенности стимуляции суперовуляции, фолликуло- и оогенеза у пациенток в исследуемых группах

При анализе данных циклов стимуляции отмечены статистически значимые различия в назначении человеческого менопаузального и рекомбинантных гонадотропинов как внутри группы, так и между группами. Средняя суммарная доза гонадотропинов была наиболее высокой в 1С-подгруппе (низкий фолликулярный резерв), чем в подгруппах 1А и 1В и группе контроля (2340 ± 345 , 2МЕ, $1730,3\pm 262$, 1МЕ, $1673,4\pm 248,4$ МЕ и $1662,2\pm 221,4$ МЕ соответственно) ($p<0,001$), статистически значимой разницы между подгруппами 1А и 1В отмечено не было.

Продолжительность стимуляции в группе контроля (2 группа) была статистически значимо короче, чем в подгруппах пациенток позднего репродуктивного возраста. Максимальная длительность стимуляции наблюдалась в 1С-подгруппе - $11,8\pm 1,1$ дней, (1А-подгруппа – $9,3\pm 1,3$ дня, 1В-подгруппа $9,2\pm 1,1$ дня, контроль - $8,5\pm 1,2$ дней) ($p<0,001$).

У 163 пациенток основной группы (1А-подгруппа– 35, 1В-подгруппа– 36 пациенток, 1С-подгруппа – 92 пациентки) после стимуляции фолликулогенеза во время пункции фолликулов был произведен забор ФЖ, которую сохраняли в стандартных вакуумных пробирках с гепарином лития при температуре -20°C для получения дальнейшей информации о состоянии микроокружения яйцеклетки в фолликуле.

Изучение последствий индукции овуляции выявило статистически значимые различия между основными группами и внутри подгрупп по общему количеству полученных в цикле стимуляции и аспирированных фолликулов ($p<0,001$). В целом количество нормально оплодотворившихся ооцитов, среднее число бластоцист на пациентку, среднее число бластоцист отличного или хорошего качества в группе позднего репродуктивного возраста было статистически значимо ниже, чем в группе контроля (2 группа), ($p<0,001$ для всех параметров (таблица 4.16).

Таблица 4.16 – Параметры индуцированного цикла у пациенток

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
Общее количество фолликулов, абс.	13,8±1,5	18,8 ±1,2	18,6±1,2	3,7±1,3	28,3±2,2
Общее количество аспирированных ооцитов, абс.	11,5±1,4	15,3 ±1,4	16,3±1,6	3,3±1,3	17,3±1,5
Среднее число ооцитов МП, абс.	8,2±0,9	13,3 ±1,3	12,3±1,4	3,1±1,1	14,2±1,5
Количество незрелых ооцитов, абс.	3,7±0,8	1,5 ±1,2	1,3±1,1	0,6±0,1	2,1±0,5

Минимальное количество фолликулов, общее количество аспирированных ооцитов и ооцитов МП было получено у пациенток 1С-подгруппы (3,7±1,3, 3,3±1,3 и 3,1±1,1 соответственно ($p<0,001$)). Обращали на себя внимание показатели пациенток 1А-подгруппы, результаты фолликуло- и оогенеза которых практически не отличались от группы контроля, однако при этом отсутствовали

удовлетворительные результаты оплодотворения, несмотря на нормоспермию у партнера.

Внутри группы позднего репродуктивного возраста в 1А-подгруппе, несмотря на удовлетворительные результаты индукции, не было получено ни одного благополучного эмбриона. В 1В-подгруппе результаты этапа оогенеза и эмбриогенеза можно было считать относительно удовлетворительными. Тогда как в 1С-подгруппе среднее число бластоцист отличного или хорошего качества составило $0,7 \pm 0,1$ (таблица 4.17).

Таблица 4.17 – Особенности оогенеза и эмбриогенеза

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
Среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов (2PN)	$8,9 \pm 1,3$	-	$8,2 \pm 1,2$	$2,6 \pm 0,9$	$11,3 \pm 1,4$
Частота оплодотворения (%)	$45,4 \pm 4,5$	-	$68,4 \pm 6,4$	$27,3 \pm 5,4$	$82,2 \pm 8,3$
Морфологическая оценка эмбрионов на 3-и сутки (баллы)	$2,5 \pm 0,7$	-	$2,8 \pm 0,6$	$2,2 \pm 0,7$	$3,1 \pm 0,9$
Среднее число бластоцист на пациентку	$4,2 \pm 1,3$	-	$8,3 \pm 1,1$	$0,7 \pm 0,1$	$11,3 \pm 1,4$
Среднее число бластоцист отличного или хорошего качества	$3,2 \pm 0,7$	-	$6,2 \pm 0,4$	$0,3 \pm 0,2$	$10,2 \pm 0,7$

Всем пациенткам, у которых были получены эмбрионы, произведен их перенос.

Частота наступления биохимической беременности составила в группе контроля 54%, клинической – 46%, тогда как у всех пациенток группы позднего репродуктивного возраста наблюдался неудовлетворительный результат цикла ЭКО (таблица 4.18). У пациенток 1А-подгруппы перенос эмбрионов не состоялся, в 1В-подгруппе – был осуществлен у 68 (93,2%) пациенток, в 1С-подгруппе – у 32 (19,2%) пациенток. Частота наступления биохимической беременности на перенос

составила в 1В-подгруппе – 28,8%, в 1С-подгруппе – 2,4%. Клиническая беременность у всех пациенток группы позднего репродуктивного возраста не наступила – неудовлетворительный результат цикла ЭКО (таблица 4.18).

Таблица 4.18 – Исходы программ ЭКО у пациенток исследуемых групп

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
Количество перенесенных эмбрионов в полость матки	100 (33,1%)	-	68 (93,2%)	32 (19,2%)	50 (100%)
Частота наступления биохимической беременности на цикл абс. (%)	25 (8,3%)	-	21 (28,8%)	4 (2,4%)	27 (54,0%)
Частота наступления биохимической беременности на цикл эмбрионов, абс.(%)	25 (25%)	-	21 (30,8%)	4 (12,5%)	27 (54,0%)
Частота наступления клинической беременности на перенос эмбрионов, абс.(%)	-	-	-	-	23 (46,0%)

4.3.4 Дополнительные результаты лабораторных исследований в объеме последующей прегравидарной подготовки

Мелатонин играет важную роль в синхронизации и регуляции репродуктивных процессов, воздействующих на все уровни оси гипоталамус-гипофиз-гонады. Выработка мелатонина по принципу обратной связи оказывает подавляющее влияние на выработку гонадотропин-рилизинг-гормона гипоталамусом, контролирует пульсирующую секрецию ЛГ. При недостаточности выработки эпифизом мелатонина происходит усиление продукции ФСГ и

формируется механизм возрастной ановуляции, связанной с персистенцией или лютеонизацией фолликула [44]. По результатам нашего исследования получены следующие данные (таблица 4.19).

Таблица 4.19 – Уровень мелатонина в периферической крови, (пг/мл)

Показатель	1 группа, n=163	1А подгруппа, n=35	1В подгруппа, n=36	1С подгруппа, n=92	Лабораторный контроль, n=50
M±SD	21,5±3,22	26,4±4,22	26,6±4,23	10,6±4,15	28,9±5,43
1-2, p			<0,001		
1А-2, p			0,657		
1В-2, p			0,529		
1С-2, p			<0,001		
1А-1В, p			0,468		
1А-1С, p			<0,001		
1В-1С, p			<0,001		

При анализе полученных данных нормальное распределение показателей не было отвергнуто и расчеты велись с использованием парного Т-критерия. Результаты исследования показали снижение уровня мелатонина у подавляющего большинства пациенток 1С-подгруппы - 10,6±4,15 пг/мл ($p < 0,001$ при сравнении с группой контроля (28,9±5,43 пг/мл)). У пациенток 1А и 1В-подгрупп уровень мелатонина в сыворотке крови статистически значимо не отличался от результатов контрольной группы – 26,4±4,22 пг/мл и 26,6±4,23 пг/мл ($p = 0,657$ и $p = 0,529$ соответственно).

Схожие результаты получены и при анализе уровня мелатонина в ФЖ (таблица 4.20). Уровень мелатонина у пациенток группы 1В, отличался от параметров группы контроля, $p = 0,005$. Пациентки 1С-подгруппы имели статистически значимо сниженный уровень мелатонина, по сравнению с подгруппами 1А, 1В и 2 группой ($p < 0,001$) соответственно.

Таблица 4.20 – Уровень мелатонина в фолликулярной жидкости, (пг/мл)

Показатель	1 группа, n=163	1А подгруппа, n=35	1В подгруппа, n=36	1С подгруппа, n=92	Лабораторный контроль, n=50
M±SD	31,4±1,2	37,5±0,9	36,3±1,4	22,7±0,7	39,6±1,6
Me[Q1; Q3]	30,1 [28,5;34,8]	34,9 [34,7,5;38,2]	35,2 [34,2;38,7]	22,6 [22,1;26,2]	39,4 [36,2;40,2]
1-2, p			<0,001		
1А-2, p			0,006		
1В-2, p			0,005		
1С-2, p			<0,001		
1А-1В, p			0,487		
1А-1С, p			<0,001		
1В-1С, p			<0,001		

Следует отметить, что фолликулярная жидкость у пациенток всех групп имела существенно большую концентрацию мелатонина, чем сыворотка крови. Также между уровнем мелатонина ФЖ и уровнем мелатонина в ПК была отмечена сильная положительная корреляция ($r=0,92$; $p<0,001$) (рисунок 4.3).

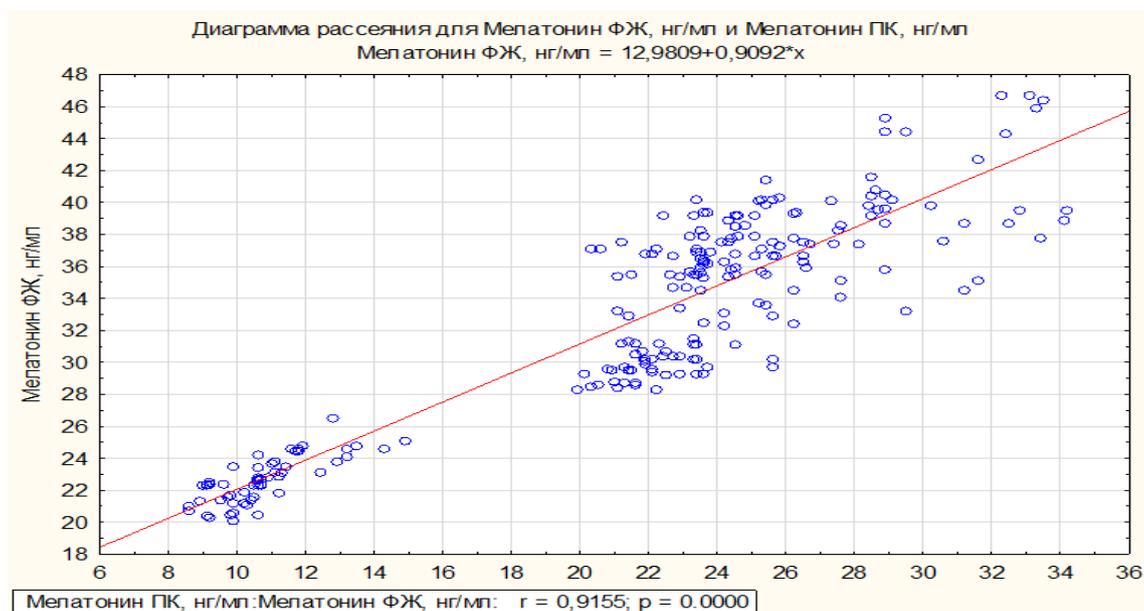


Рисунок 4.3 – Линейная корреляция между уровнями мелатонина периферической крови и фолликулярной жидкости у пациенток 1 группы

Уровень мелатонина ПК и ФЖ коррелировал с возрастом пациенток, составив среднюю отрицательную связь ($r=-0,65$, $p<0,001$) для мелатонина ПК и ($r=-0,59$, $p<0,001$) для мелатонина ФЖ) (рисунок 4.4).

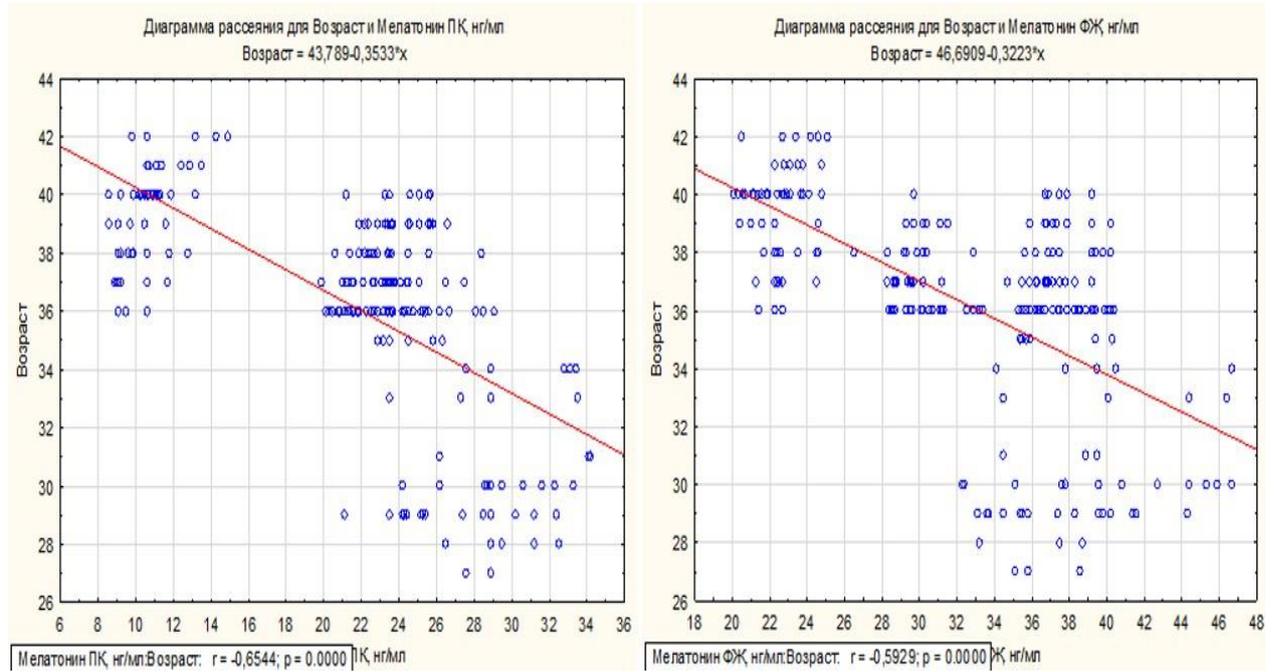


Рисунок 4.4 – Линейная корреляция между возрастом пациенток 1 группы и уровнями мелатонина периферической крови и фолликулярной жидкости

Для выяснения тесноты и направленности взаимосвязи между мелатонином ФЖ и ПК, центральными и периферическими половыми гормонами, проведено построение корреляционной матрицы (таблица 4.21). Корреляционный анализ выявил закономерные сильные корреляционные взаимосвязи между всеми компонентами матрицы. Максимально сильная отрицательная взаимосвязь наблюдалась между уровнями ФСГ, ЛГ и уровнем мелатонина ПК и ФЖ (таблица 4.21), а также уровнем мелатонина ФЖ, прогестероном ($r=0,82$) и эстрадиолом ПК ($r=0,78$).

Таблица 4.21 – Коррелятивные взаимосвязи между мелатонином и половыми гормонами в когорте пациенток

Показатель	ФСГ	ЛГ	АМГ	Эстрадиол	Прогестерон
Мелатонин ПК	-0,92	-0,74	0,95	0,66	0,66
Мелатонин ФЖ	-0,88	-0,85	0,92	0,78	0,82

Сильная положительная взаимосвязь наблюдалась между уровнями АМГ и концентрацией мелатонина ПК, мелатонина ФЖ и несколько менее выраженная

между мелатонином периферической крови и уровнями эстрадиола ($r=0,56$ и $r=0,66$) и прогестерона ($r=0,54$ и $r=0,66$).

Известно, что ФЖ является очень важным микроокружением, которое играет решающую роль в развитии яйцеклеток. Во время созревания яйцеклетка поддерживается компонентами ФЖ. Следовательно, весьма возможно, что некоторые биохимические характеристики ФЖ играют решающую роль в качестве яйцеклеток и последующем потенциале достижения оплодотворения и развития эмбриона. Активные формы кислорода вызывают повреждение клеток и апоптоз клеток вследствие замедления нормального клеточного метаболизма и обмена липидных мембран [11].

Избыточное образование окислительных свободных радикалов происходит при наличии воспаления и старении организма. Яйцеклетки и клетки яичника продуцируют активные формы кислорода (АФК) и активный азот (RNS) в микроокружении фолликула. Развитие фолликулов и последующее эмбриональное развитие сопряжено с увеличением ненасыщенности липидов, что делает фолликуло- и эмбриогенез особенно чувствительным к повреждающему действию свободных радикалов.

Окислительный стресс нарушает функцию яичников, что приводит к повреждению яйцеклеток, клеток гранулезы и мезенхимальных клеток в яичнике, тем самым приводя к инфертильности или к изменениям в эмбриональном развитии, усугубляющимся с возрастом пациенток [235].

Фермент супероксиддисмутаза (SOD) считается одним из главных элементов антиоксидантной защиты клетки. Он нейтрализует вредные супероксидные радикалы и защищает клетки от обусловленного ими травмирующего эффекта, в том числе и в фолликулярном аппарате яичников (таблица 4.22).

По данным нашего исследования, уровень супероксиддисмутазы в ФЖ у всех пациенток позднего репродуктивного возраста с неудачной попыткой ЭКО в анамнезе (1 группа) был статистически значимо ниже, чем в контрольной группе ($37,5 \pm 5,3$ мМЕ/мг, против $52,6 \pm 6,4$ мМЕ/мг, $p < 0,001$). При анализе внутригрупповых различий выявлено, что минимальная активность SOD

наблюдалась в 1С-подгруппе ($32,4 \pm 3,5$ мМЕ/мг, $p < 0,001$ относительно всех подгрупп) у наиболее старших пациенток с резким снижением фолликулярного резерва и наличием «тонкого эндометрия». Уровень супероксиддисмутазы в ФЖ у пациенток, 1А и 1В-подгрупп статистически значимо не различался ($p = 0,127$), хотя и был существенно ниже, чем в контрольной группе, $p < 0,001$ (таблица 4.22).

Таблица 4.22 – Уровень SOD в фолликулярной жидкости, (мМЕ/мг)

Показатель	1 группа, n=163	1А подгруппа, n=35	1В подгруппа, n=36	1С подгруппа, n=92	Лабораторный контроль, n=50
Me [Q1; Q3]	37,5 [35,8;39,9]	41,8 [38,6; 45,9]	41,3 [37,5; 44,6]	32,4 [30,6; 34,1]	52,6 [45,5; 55,7]
1-2, p	<0,001				
1А-2, p	<0,001				
1В-2, p	<0,001				
1С-2, p	<0,001				
1С-2, p	<0,001				
1А-1В, p	0,127				
1А-1С, p	<0,001				
1В-1С, p	<0,001				

Малоновый диальдегид (MDA) является основным и наиболее изученным продуктом перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот. Уровень MDA широко используется в качестве биомаркера для оценки окислительного стресса.

Реакция MDA с ДНК во время внутриклеточного окислительного стресса с образованием аддуктов MDA-ДНК делает его важным биомаркером эндогенного повреждения ДНК и генетического материала, в том числе и в процессах фолликуло- и эмбриогенеза (таблица 4.23). Уровень MDA у пациенток 1 группы в целом был в 1,3 раза выше чем в группе контроля, с максимальными значениями у пациенток 1С-подгруппы $0,89 \pm 0,08$ μM ($p < 0,001$). Уровень MDA в 1А-подгруппе статистически значимо не отличался от группы контроля ($p = 0,786$), у пациенток 1В-подгруппы отмечалось некоторое минимальное достоверное отклонение от результатов контрольной группы ($p = 0,006$) (таблица 4.23).

Таблица 4.23 – Уровень MDA в фолликулярной жидкости, (μM)

Показатель	1 группа, n=163	1A подгруппа, n=35	1B подгруппа, n=36	1C подгруппа, n=92	Лабораторный контроль, n=50
Me [Q1; Q3]	0,74 [0,69;0,79]	0,59 [0,59; 0,66]	0,63 [0,59; 0,69]	0,89 [0,85;0,92]	0,59 [0,54; 0,69]
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	0,786				
1B-2, p	0,006				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	0,037				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				

Коэффициент SOD/MDA, представляющий соотношение антиоксидантов к прооксидантам, отражает уровень оксидативного стресса в ФЖ (таблица 4.24).

Таблица 4.24 – Коэффициент SOD/MDA в фолликулярной жидкости (у.е.)

Показатель	1 группа, n=163	1A подгруппа, n=35	1B подгруппа, n=36	1C подгруппа, n=92	Лабораторный контроль, n=50
Me [Q1; Q3]	0,5 [0,46;0,63]	0,71 [0,64; 0,77]	0,66 [0,59; 0,8]	0,36 [0,33;0,39]	0,83 [0,77; 0,93]
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	<0,001				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	0,268				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				

По данным нашего исследования, у всех пациенток 1 группы коэффициент SOD/MDA в ФЖ был статистически значимо ниже, чем у пациенток 2 группы (контроль) и составил $0,5 \pm 0,07$ у.е. против $0,83 \pm 0,05$ у.е., $p < 0,001$ (таблица 4.24).

Наиболее выраженный окислительный стресс в ФЖ отмечался у пациенток 1C-подгруппы ($0,36 \pm 0,06$ у.е.), как за счет истощения способности SOD к устранению супероксидных анион-радикалов, так и за счет увеличения

интенсивности перекисного окисления липидов. В подгруппах 1А и 1В также отмечался дисбаланс между антиоксидантно-прооксидантной системами, коэффициент SOD/MDA был статистически значимо уменьшен по сравнению с группой контроля – $0,71 \pm 0,06$ у.е. и $0,66 \pm 0,05$ у.е. соответственно, против $0,83 \pm 0,05$ в контрольной группе, $p < 0,001$ для всех показателей. Однако у пациенток этих подгрупп коэффициент снижался в основном за счет уменьшения активности супероксиддисмутазы.

При расчете корреляционных взаимоотношений между SOD/MDA и возрастом пациенток 1 группы мы выявили среднюю отрицательную связь ($r = -0,64$, $p < 0,001$) (рисунок 4.5).

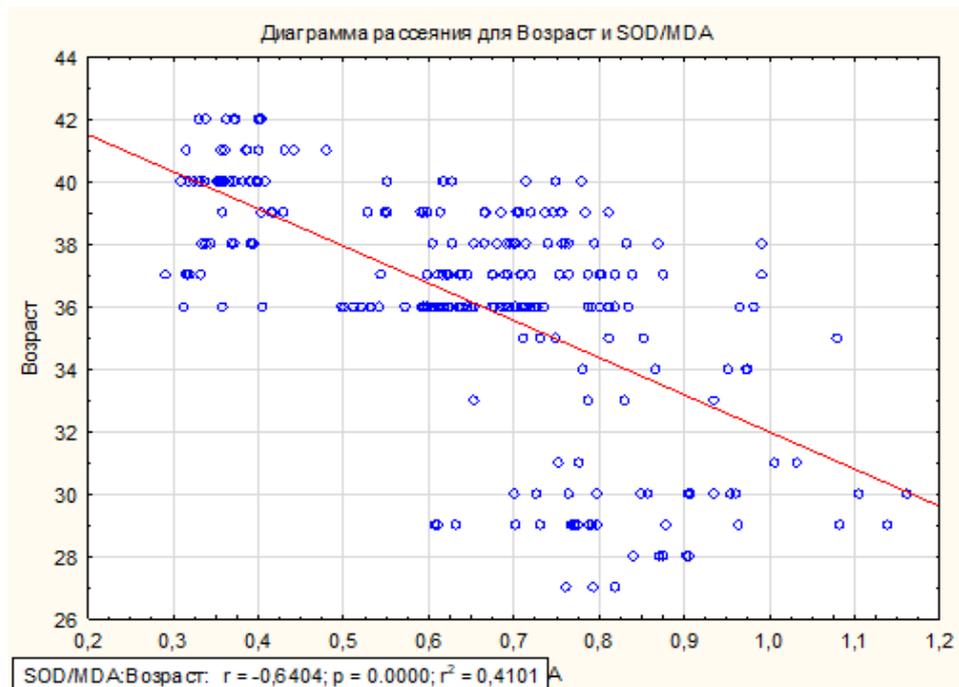


Рисунок 4.5 – Линейная корреляция между возрастом пациенток (1 группа) и коэффициентом SOD/MDA (у.е.)

Мелатонин и его метаболиты, такие как АМК (N1-Acetyl-5-methoxykynuramine), могут непосредственно поглощать свободные радикалы и токсичные метаболиты, а затем формировать антиоксидантный каскад, который играет важную роль в поглощении свободных радикалов, непосредственно понижая уровень внутриклеточных АФК, поддерживая внутриклеточный окислительно-восстановительный баланс и гомеостаз внутренней среды [130].

В нашем исследовании при проведении корреляционного анализа выявлена достоверная сильная положительная связь между уровнем мелатонина в ПК и ФЖ и коэффициентом соотношения SOD/MDA в ФЖ (рисунок 4.6). Вследствие этого можно предположить непосредственное влияние мелатонина на уровень окислительного стресса в яичниках за счет эффективной антиоксидантной активности.

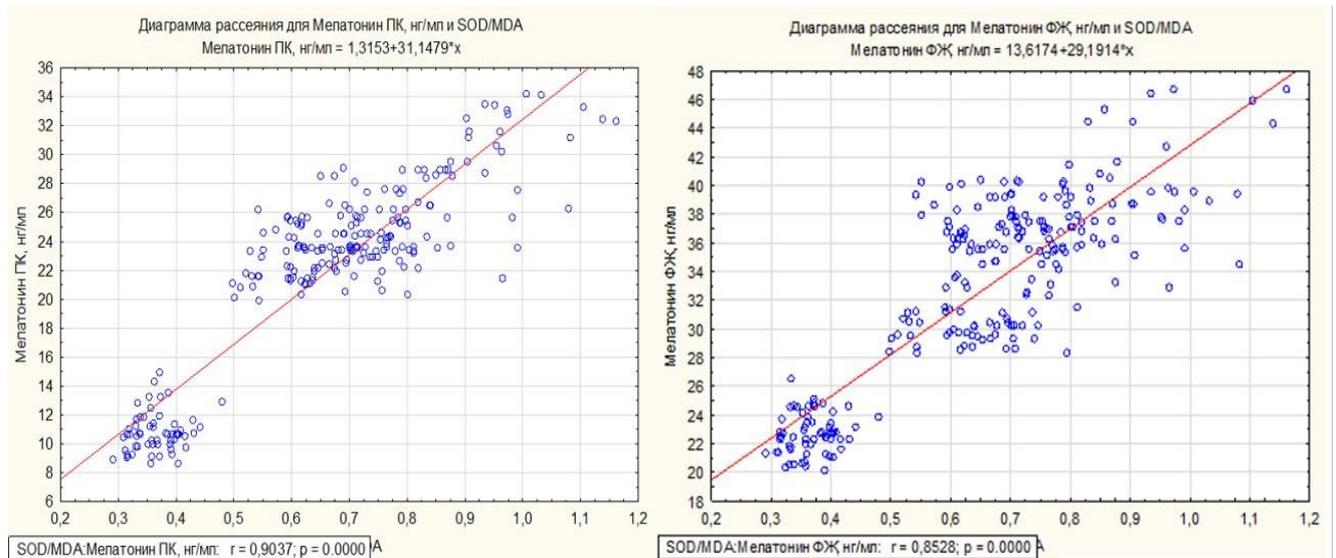


Рисунок 4.6 – Линейная корреляция между уровнем мелатонина периферической крови и фолликулярной жидкости пациенток (1 группа) и коэффициентом SOD/MDA (y.e.)

Таким образом, снижение мелатонина и нарушение циркадных ритмов его продукции эпифизом, сигнализирует о расстройстве пинеального и гипофизарного контроля над яичниковой цикличностью и прогрессивном угасании фертильной функции женщины [4, 16, 69, 106, 168, 199], что косвенно подтверждается проведенными исследованиями.

Приведенные выше корреляционные взаимосвязи свидетельствуют о возможности коррекции уровней половых гормонов, а соответственно, и фертильной функции пациенток путем регуляции пинеальных дисфункций. В то же время повышение уровня эндогенного мелатонина ПК и ФЖ, возможно обеспечит усиление активности SOD, что позволит улучшить качество среды микроокружения яйцеклетки, снизить повреждение ДНК, вызванное окислительным стрессом, тем

самым способствуя улучшению процессов оплодотворения у пациенток позднего репродуктивного возраста.

4.3.5 Дополнительные результаты инструментальных исследований в объеме последующей прегравидарной подготовки

Допплерометрические данные, полученные при измерении гемодинамики в маточной артерии, дают дополнительную информацию о функциональном состоянии репродуктивной системы и могут быть одним из методов, определяющем возможность наступления беременности при проведении ЭКО (таблицы 4.25 и 4.26).

Таблица 4.25 – Показатели внутриматочной гемодинамики по данным доплерометрического исследования в средней секреторной фазе (индекс резистентности маточных артерий (IR))

Индекс резистентности маточных артерий (IR)	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	0,86±0,04	0,89±0,04	0,9±0,04	0,83±0,04
1-2, p	0,056			
1А-2, p	0,354			
1В-2, p	<0,001			
1С-2, p	<0,001			
1А-1В, p	<0,001			
1А-1С, p	<0,001			
1В-1С, p	0,511			

Таблица 4.26 – Показатели внутриматочной гемодинамики по данным доплерометрического исследования в средней секреторной фазе (пульсационный индекс (PI) маточных артерий)

Пульсационный индекс маточных артерий (PI)	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	2,63±0,1	3,01±0,1	3,02±0,1	2,46±0,01
1-2, p	0,056			
1А-2, p	0,354			
1В-2, p	<0,001			
1С-2, p	<0,001			
1А-1В, p	<0,001			
1А-1С, p	<0,001			
1В-1С, p	0,511			

По данным нашего исследования средние значения индекса резистентности маточных артерий (RI) и пульсационного индекса (PI) маточных артерий у пациенток с «тонким эндометрием» 1С-подгруппы были статистически значимо увеличены ($p < 0,001$) сравнительно с результатами 1А-подгруппы и группы контроля (таблица 4.25 и таблица 4.26).

Полученные данные подтверждают у этих пациенток наличие высокорезистентного маточного кровотока. Между толщиной эндометрия и доплерометрическими данными отмечена средняя отрицательная корреляционная взаимосвязь (среднее $r = -0,77$), что косвенно свидетельствует о прогностическом значении данных параметров.

4.3.6 Микробиологические исследования в объеме последующей прегравидарной подготовки

Стандартные методы микробиологической диагностики, включенные в клинические рекомендации, в полной мере не позволяют отчетливо судить о действительной колонизации эндометрия ввиду доказанной многими исследованиями разнородностями микрофлоры влагалища, цервикального канала

и полости матки (таблицы 4.27 и 4.28).

Таблица 4.27 – Частота выявления микроорганизмов в эндометрии, (абс/%)

Показатель	1 группа, n=302		1А подгруппа, n=62		1В подгруппа, n=73		1С подгруппа, n=167		2 группа (контроль), n=50	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
<i>Lactobacillus</i> spp.	216	71,5	59	95,2	25	34,2	132	79,0	50	100
сем. Enterobacteriaceae	101	33,4	4	6,5	65	89,0	4	2,4	2	4,0
<i>Eubacterium</i> spp.	78	25,8	3	4,8	64	87,7	6	3,6	4	8,0
<i>Staphylococcus</i> spp.	55	18,2	-	-	23	31,5	7	4,2	-	-
<i>Streptococcus</i> spp.	25	8,3	-	-	13	17,8	2	1,2	-	-
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Porphyromonas</i> spp.	41	13,6	5	8,1	21	28,8	8	4,8	3	6,0
<i>Sneathia</i> spp.+ <i>Leptotrichia</i> spp.+ <i>Fusobacterium</i> spp.	12	4,0	4	6,5	6	8,2	-	-	-	-
<i>Megasphaera</i> spp.+ <i>Veillonella</i> spp. + <i>Dialister</i> spp.	10	3,3	2	3,2	7	9,6	1	0,6	-	-
<i>Lachnobacterium</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	14	4,6	-	-	14	19,2	-	-	-	-
<i>Mobiluncus</i> spp. + <i>Corynebacterium</i> spp.	19	6,3	-	-	14	19,2	3	1,8	-	-
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	6	2,0	-	-	6	8,2	-	-	-	-
<i>Atopobium vaginae</i>	23	7,6	-	-	23	31,5	2	1,2	-	-
<i>Candida</i> spp.	32	10,6	3	4,8	16	21,9	4	2,4	3	6,0
<i>Mycoplasma hominis</i>	14	4,6	-	-	14	19,2	-	-	-	-
<i>Ureaplasma</i> (<i>urealyticum</i> + <i>parvum</i>)	18	6,0	-	-	18	24,7	-	-	-	-
<i>Mycoplasma genitalium</i>	4	1,3	-	-	4	5,5	-	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3	1,0	-	-	3	4,1	-	-	-	-
Вирус простого герпеса 1/2 тип	17	5,6	-	-	17	23,3	-	-	-	-
Цитомегаловирус	8	2,6	-	-	8	11,0	-	-	-	-

Таблица 4.28 – Признаки статистической значимости отличий в наличии микрофлоры в эндометрии

р-уровень значимости, критерий Фишера	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50	
1 группа, n=302	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
1А подгруппа, n=62	<0,001	-	<0,001	<0,001	<0,001	
1В подгруппа, n=73	<0,001	<0,001	-	<0,001	<0,001	
1С подгруппа, n=167	<0,001	<0,001	<0,001	-	<0,001	
2 группа (контроль), n=50		<0,001	0,007	<0,001	0,009	-

В нашем исследовании, несмотря на отрицательные микробиологические посева, полученные с других топических зон, результаты структуры контаминирующей микрофлоры эндометрия существенно отличались у части пациенток. Так они были положительными у 286 (94,7%) пациенток позднего репродуктивного возраста и у 95 (95%) пациенток группы контроля. При этом у 2/3 женщин, которые изначально были включены в 1 группу, у 95,2% подгруппы 1А и у 79,0% из подгруппы 1С выделена микрофлора в виде *Lactobacillus spp.*

При этом усредненный уровень концентрации бактерий у женщин из 2 группы (контрольной) равнялся 111,5 ГЭ/мл, а относительное число лактобацилл составило 105,2 ГЭ/мл, что отвечает уровню 0,1(log) от ОБМ. У женщин, входящих в подгруппу 1А, ОБМ составила порядка 109,1 ГЭ/мл, а относительное число лактобацилл – 103,9 ГЭ/мл, что отвечает 0,1(log) от ОБМ. У участниц исследования, которые составили подгруппу 1С, значение параметра «общая бактериальная масса» равнялось 106,1 ГЭ/мл, а относительное число лактобацилл – 104,3 ГЭ/мл, что отвечает 0,1(log) от ОБМ. В то же время у женщин, которые обладали преимущественно имплантационным фактором (подгруппа 1В), рассматриваемые показатели равнялись 112,4 ГЭ/мл, 98,2 ГЭ/мл, -2,2(log) соответственно.

Уровень частоты обнаружения условных патогенных и патогенных

микробов/бактерий у женщин, входящих в подгруппу 1В, существенно превышал аналогичный показатель у женщин из подгрупп 1А, 1С и группы 2 (группы контроля), при $p < 0,001$. В микробиоме матки у женщин из 1В-подгруппы гораздо чаще диагностировался *Enterobacteriaceae spp.* – в 6 раз, а в процентном выражении – до 89,0%, *Staphylococcus spp.* – в 4 раза чаще, до 31,5%, *Eubacterium spp.* – более чем в 10 раз чаще, до 87,7%. При этом данное изменение картины микробиоты сочеталось со снижением частоты выявления *Lactobacillus spp.* – до 34,2 %, против 100% во 2 группе, 79,0% в подгруппе 1С и 95,2% в 1А-подгруппе (таблица 4.28). Количество микроорганизмов (*Enterobacteriaceae spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus u Eubacterium spp.*) также было значительно выше в эндометрии у пациенток 1В-подгруппы, по сравнению со 2 группой и подгруппами 1А и 1С, ($p < 0,001$). Частота выявления облигатно-анаэробных организмов в количестве более чем 10^4 превалировала у пациенток 1В-подгруппы: *Atopobium vaginae* был обнаружен у 31,5% пациенток (10^5 абс. копий и более), комплекс *Gardnerella vaginalis+Prevotellabivia+Porphyromonas spp.* выявлен у 28,8% пациенток (10^5 абс. копий и более), сочетание *Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.* и *Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.* встречалось у 19,2% пациенток, *Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.* и *Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp.* и *Peptostrepto coccus spp.* в среднем у 9% пациенток. Напротив, у пациенток подгрупп 1А и 1С и в группе контроля облигатно-анаэробные микроорганизмы выявлялись с частотой не более 10% совокупно в количестве 10^4 копий в образце. Обращал на себя внимание тот факт, что, несмотря на отрицательные микробиологические результаты, полученные из содержимого влагалища и цервикального канала, у пациенток подгруппы 1В были выявлены патогенные микроорганизмы *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* у 24,7%, *Mycoplasma genitalium* у 5,5%, *Chlamydia trachomatis* у 4,1% и высокая контаминация вирусной инфекцией (вирус простого герпеса 1/2 типа) у 23,3%, цитомегаловирус – у 11,0% (таблица 4.27).

Человеческий кателицидин (hCAP18/LL-37), который играет ключевую роль во врожденной защите организма, экспрессируется главным образом эпителиальными клетками и нейтрофилами и, в том числе, в цервикальном канале,

а увеличение его экспрессии наблюдается при патологических изменениях бактериальной флоры влагалища и цервикального канала [23, 219].

В рамках нашего исследования только у пациенток подгруппы 1В, с наличием ИГХ и микробиологических критериев ХЭ, отмечалось повышение уровня кателицидина цервикального секрета: он составил $56,9 \pm 7,1$ пг/мл, против $32,9 \pm 3,0$ пг/мл в группе контроля и $32,9 \pm 3,0$ пг/мл и $33,5 \pm 3,0$ пг/мл в подгруппах 1А и 1С соответственно ($p < 0,001$). Уровни кателицидина у пациенток группы контроля и подгрупп 1А и 1С статистически значимо не различались, $p = 0,421$ и $p = 0,356$ (таблица 4.29, рисунок 4.7).

Таблица 4.29 – Уровень LL37 (кателицидин) в цервикальном секрете, пг/мл

LL37, пг/мл	Среднее	Медиана	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Ст. откл.	Станд. ошибка среднего
1А-подгруппа	32,9	33,5	31,8	35,1	3,0	0,4
1В-подгруппа	56,9	56,7	51,8	63,6	7,1	0,8
1С-подгруппа	33,5	34,2	31,8	35,8	3,0	0,4
2 группа (контроль)	32,9	33,7	30,1	35,1	3,0	0,4
1А-2, р	0,421					
1В-2, р	<0,001					
1С-2, р	0,356					
1А-1В, р	<0,001					
1А-1С, р	0,348					
1В-1С, р	<0,001					

Это позволило сделать вывод, что повышение уровня LL37 при отсутствии патогенной микрофлоры во влагалище и цервикальном канале можно считать одним из признаков наличия ХЭ, а количественный уровень кателицидина цервикального секрета можно считать косвенным неинвазивным критерием состояния микробиоты эндометрия.

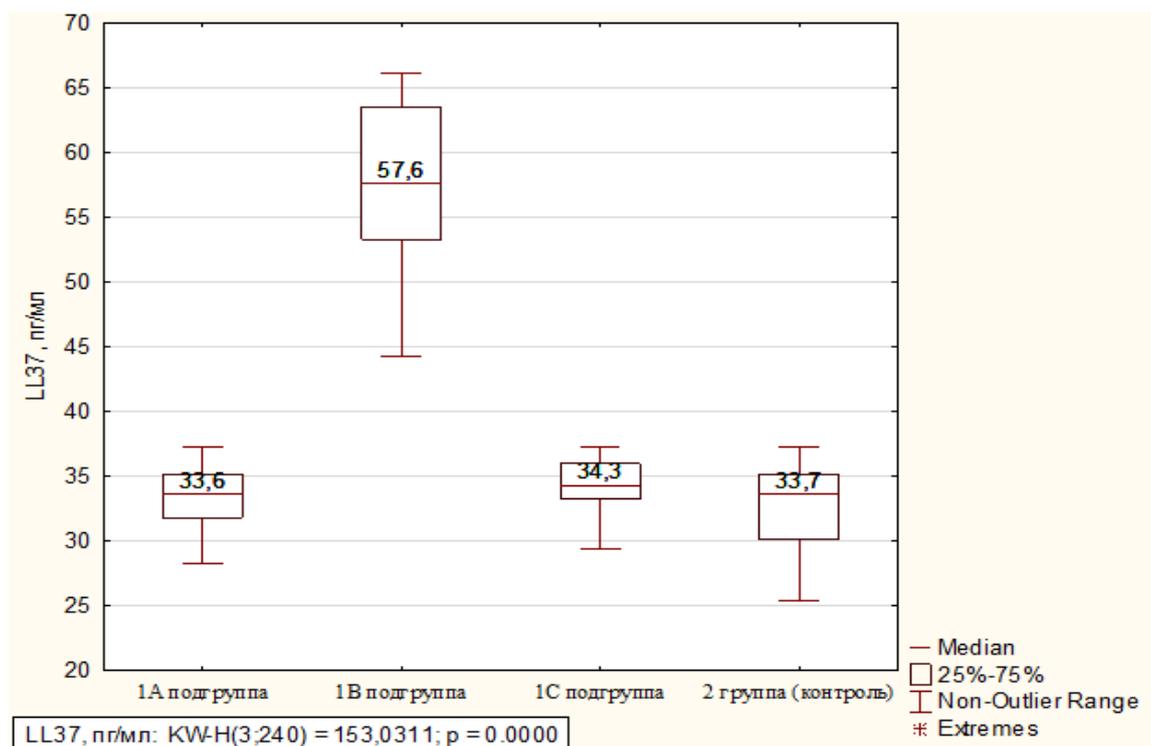


Рисунок 4.7 – Уровень LL37 цервикального секрета, пг/мл

4.3.7 Иммуногистохимическое обследование пайпель-биоптатов эндометрия в объеме последующей прегравидарной подготовки

Аспирационная пайпель-биопсия была взята у всех женщин с 19 по 21 день МЦ. По данным нашего исследования, у пациенток подгруппы 1А не было отмечено ИГХ признаков ХЭ, что подтверждалось отсутствием патогномичного повышения натуральных киллеров CD56, активированных лимфоцитов (HLA-DR) и плазматических клеток. В целом по совокупности данных цитологического и ИГХ исследований, эндометрий соответствовал средней фазе секреции МЦ с умеренно сниженной экспрессией эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в железах эндометрия и строме, но при этом наблюдалось минимальное, но статистически значимое отличие ($p < 0,001$) от результатов группы контроля. Признаки ХЭ отсутствовали (HLA-DR – отрицательно – $1,2 \pm 4,52$ клеток в поле зрения), минимальное количество истинных клеток киллеров (CD56 – $6,4 \pm 3,1$ клеток в поле зрения) и плазмоцитов CD138 – $1,01 \pm 0,85$ клеток в поле зрения (таблица 4.30).

Таблица 4.30 – Иммуногистохимические критерии хронического эндометрита: CD56+, CD138+, HLA-DR

Показатель	1 группа, n=302	1A подгруппа, n=62	1B подгруппа, n=73	1C подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
HLA-DR (MHC II) M±SD	8,4± 4,65	1,3±0,72	18,6± 4,64	4,7± 4,58	1,2± 4,52
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	0,032				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				
CD56 (NK-клетки) M±SD	26,06± 3,15	6,9±1,2	32,7± 3,4	15,5± 3,31	6,4± 3,10
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	0,045				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				
CD138 (плазмоциты) M±SD	3,04±0,81	1,1±0,75	6,08±0,8	2,9±0,86	1,01±0,85
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	0,047				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				

У пациенток 1B группы на фоне выявления бактериального и частично вирусного обсеменения эндометрия, по данным ИГХ исследования, наблюдались признаки десинхронизации лютеиновой фазы, эндометрий соответствовал поздней пролиферативной фазе или ранней секреторной фазе с максимальным, по сравнению со всеми пациентками, статистически значимым относительно группы контроля и 1A подгруппы ($p < 0,001$), увеличением экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону в железах и строме эндометрия (таблица 4.30) и наличием морфологических признаков умеренно выраженного ХЭ с

аутоиммунным компонентом в фазе обострения с активацией системы истинных клеток киллеров (CD56 $32,7\pm 3,4$ клеток в поле зрения), умеренно выраженной экспрессией плазматических (CD 138 $6,08\pm 0,8$ клеток в поле зрения) и подтверждением активации аутоиммунного характера процесса (HLA-DR $18,6\pm 4,64$) (таблица 4.31).

У пациенток 1С подгруппы при исключительном обеднении фолликулярного резерва и наличии в анамнезе бедного овариального ответа, эндометрий совпадал с фазой ранней пролиферации со сниженным количеством пиноподий, с максимальным, по сравнению со всеми пациентками группы и группой контроля ($p<0,001$), уменьшением экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону в железах и строме эндометрия, вероятно, за счет снижения концентрации эстрогенов и прогестерона в сыворотке крови.

Несмотря на то, что было отсутствие патологического микробного обсеменения эндометрия по результатам микробиологического обследования, у пациенток 1С подгруппы определялись признаки слабо выраженного аутоиммунного ХЭ с активацией у части пациентов (102 (61,1%)) системы истинных клеток киллеров (CD56 в среднем $15,5\pm 3,31$ клеток в поле зрения), слабо выраженной экспрессией плазматических (CD138 $2,9\pm 0,86$ клеток в поле зрения) и подтверждением слабой активации аутоиммунного характера процесса у всех пациенток (HLA-DR $4,7\pm 4,58$) (таблица 4.30).

Иммуногистохимическая характеристика рецепторного статуса представлена в таблице 4.31.

Таблица 4.31 – Иммуногистохимическая характеристика рецепторного статуса эндометрия (ER и PR)

Показатель	1 группа, n=302	1A подгруппа, n=62	1B подгруппа, n=73	1C подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
ER КЖЭ M±SD	144,6± 41,24	128,49± 41,48	198,1± 21,83	107,5± 40,31	134,1± 40,47
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	<0,001				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				
ER КС M±SD	113,84± 27,32	136,83± 29,37	192,84± 15,35	107,74± 26,59	141,56± 30,02
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	<0,001				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				
PR КЖЭ M±SD	156,5± 36,48	166,33± 31,63	189,7± 38,58	138,5± 37,05	174,50± 28,06
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	<0,001				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				
PR КС M±SD	155,92± 33,39	161,75± 30,99	181,03± 25,86	149,88± 32,45	172,86± 29,52
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	<0,001				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	<0,001				
1B-1C, p	<0,001				

П р и м е ч а н и е - КЖЭ – клетки железистого эпителия; КС – клетки стромы

Лейкемий ингибирующий фактор (LIF) оказывает влияние на пролиферацию, дифференцировку и выживание клеток эндометрия и участвует в процессах роста и развития гамет и имплантации бластоцисты и считается ее предиктором.

Результаты экспрессии LIF в целом показали, что у более возрастных пациенток имеется статистически значимое снижение имплантационных возможностей эндометрия. Наиболее низкие значения определялись у пациенток 1С-подгруппы $2,9 \pm 1,2$ баллов при норме 10 баллов для средней секреторной фазы и результатах контрольной группы $10,2 \pm 2,8$ балла, $p < 0,001$ (таблица 4.32).

Таблица 4.32 – Иммуногистохимическая характеристика рецепторного статуса эндометрия (LIF)

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
LIF КЖЭ M±SD	7,7±1,14	7,5±2,1	5,7±6,09	2,9±1,2	10,2±2,8
1-2, p	<0,001				
1А-2, p	<0,001				
1В-2, p	<0,001				
1С-2, p	<0,001				
1А-1В, p	<0,001				
1А-1С, p	<0,001				
1В-1С, p	<0,001				

В подгруппе 1В в присутствие признаков ХЭ также отмечалось у 50% снижение экспрессии LIF относительно параметров контрольной группы ($p < 0,001$). У пациенток 1А-подгруппы тоже отмечалось достоверное уменьшение экспрессии LIF по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$), но относительно других подгрупп это уменьшение было минимально и в среднем составило 20% от нормальных показателей (таблица 4.32). Основные моменты данного фрагмента исследования изложены в публикациях автора [25, 57].

4.3.8 Параметры цитокинового баланса цервикальной слизи в объеме последующей прегравидарной подготовки

Иммунологический каскад цервикальной слизи в отсутствии цервицита по данным многих исследований является «зеркалом» интерлейкинов эндометрия. Наличие умеренно выраженного ХЭ с аутоиммунным компонентом в фазе обострения у пациенток 1В-подгруппы подтверждалось активацией провоспалительных реакций цитокинового каскада, определяемого в цервикальном секрете. Противовоспалительный индекс (ПВИ) цервикальной слизи у данной когорты пациенток был статистически значимо выше относительно других пациенток, составив $1,7 \pm 0,7$ у.е. и превышал показатель в группе контроля более чем в 2 раза за счет статистически значимого увеличения уровня IL6 до $59,5 \pm 3,6$ пг/мл против $31,2 \pm 5,1$ пг/мл в контрольной группе ($p < 0,001$) (Таблица 4.33). У пациенток 1А и 1С подгрупп ПВИ практически не отличался от группы контроля ($0,85 \pm 0,08$ у.е. и $0,89 \pm 0,3$ у.е. соответственно, $p = 0,047$ и $p = 0,046$). Причем у пациенток 1С-подгруппы, отмечался статистически значимо увеличенный уровень IL6 сравнительно с группой контроля ($p < 0,001$), но данное повышение компенсировалось адекватным статистически значимым повышением противовоспалительного IL10 ($39,3 \pm 2,5$ пг/мл и $44,3 \pm 3,6$ пг/мл) (таблица 4.33).

VEGF-A является одним из наиболее хорошо изученных факторов ангиогенеза и является основным регулятором роста кровеносных сосудов за счет стимуляции пролиферации клеток эндотелия, миграции клеток и замедлении апоптоза клеток хориона и децидуальной ткани. Все эти процессы необходимы для успешного развития эмбриона.

По данным нашего исследования уровень VEGF-A у пациенток с наличием имплантационного фактора (подгруппы 1В и 1С) был статистически значимо снижен относительно 2 группы (контроль) ($45,6 \pm 5,1$ пг/мл и $36,3 \pm 4,8$ пг/мл, $p < 0,001$) при максимальном снижении экспрессии у пациенток 1С-подгруппы. В когорте пациенток с отсутствием нарушений имплантационных возможностей эндометрия (1А подгруппа) уровень VEGF-A также статистически значимо

отличался от результатов 2 группы ($p < 0,001$), однако в данной подгруппе снижение экспрессии VEGF-A было минимальным (таблица 4.34).

Таблица 4.33 – ПВИ (IL6/ IL10) в цервикальном секрете (пг/мл)

Показатель	1 группа, n=302	1A подгруппа, n=62	1B подгруппа, n=73	1C подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
IL6					
M±SD	44,7±4,2	32,6±3,2	59,5±3,6	39,3±2,5	31,2±5,1
1-2, p	0,064				
1A-2, p	<0,001				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	<0,001				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	0,465				
1B-1C, p	<0,001				
IL10					
M±SD	40,6±2,6	38,2±3,2	41,4±4,6	44,3±3,6	39,7±5,2
1-2, p	0,067				
1A-2, p	0,061				
1B-2, p	0,073				
1C-2, p	0,073				
1A-1B, p	0,009				
1A-1C, p	0,356				
1B-1C, p	0,008				
ПВИ					
M±SD	1,1±0,08	0,85±0,08	1,7±0,7	0,89±0,3	0,86±0,02
1-2, p	<0,001				
1A-2, p	0,047				
1B-2, p	<0,001				
1C-2, p	0,046				
1A-1B, p	<0,001				
1A-1C, p	0,243				
1B-1C, p	<0,001				

Таблица 4.34 – Уровень VEGF-A в цервикальном секрете, (пг/мл)

Показатель	Когорта, n=402	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	48,1±4,9	51,8±4,5	52,3±3,7	45,6±5,1	36,3±4,8	56,3±7,1
	46,8 [45,2;48,2]	51,2 [49,1;51;8,3]	52,1 [51,5;55,7]	42,6 [42,3;46,7]	35,3 [34,2;38,6]	55,7 [56,2;67,2]
1-2, p	<0,001					
1А-2, p	<0,001					
1В-2, p	<0,001					
1С-2, p	<0,001					
1А-1В, p	<0,001					
1А-1С, p	<0,001					
1В-1С, p	<0,001					

Одним из гистологических критериев ХЭ являются фиброз стромы и склероз стенок спиральных артерий эндометрия, который обуславливает существенное снижение кровотока из-за редукции капиллярного русла. При повреждении тканей и воспалении, фибробласты активируются макрофагами, секретируют факторы роста фибробластов, в том числе трансформирующий фактор роста бета (TGFβ1). При анализе показателей, полученных от пациентов 1 группы в целом, уровень TGFβ1 в цервикальном секрете был статистически значимо выше, чем в группе контроля (2 группа) (68,8±4,6 пг/мл против 55,7±5,9 пг/мл, p<0,001). Максимальные значения отмечались в 1С-подгруппе – 73,6±2,4 пг/мл (p<0,001) относительно всех показателей (таблица 4.35).

Таблица 4.35 – Уровень TGFβ1 в цервикальном секрете, (пг/мл)

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	68,8±4,6	59,4±3,2	68,3±4,1	73,6±2,4	55,7±5,9
	64,1 [64,1;72,2]	52,1 [51,5;65,2]	65,2 [64,2;68,7]	72,6 [72,1;76,2]	55,7 [56,2;64,2]
1-2, p	<0,001				
1А-2, p	<0,001				
1В-2, p	<0,001				
1С-2, p	<0,001				
1А-1В, p	<0,001				
1А-1С, p	<0,001				
1В-1С, p	<0,001				

Косвенно преобладание процессов фиброза над процессами ангиогенеза у пациенток 1 группы подтверждалось статистически значимым увеличением соотношения TGFβ1/VEGF до $1,6 \pm 0,5$ у.е., по сравнению с группой контроля (2 группа) – $0,98 \pm 0,08$ у.е. ($p < 0,001$). Наиболее выраженные изменения отмечены у пациенток 1С-подгруппы ($2,1 \pm 0,8$ у.е.), но и в подгруппах 1А и 1В данный расчетный показатель был статистически значимо выше, чем в группе контроля ($1,1 \pm 0,7$ у.е и $1,5 \pm 0,7$ у.е., $p < 0,001$) (таблица 4.36).

Таблица 4.36 – Индекс TGFβ1/VEGF-А в цервикальном секрете (у.е.)

Показатель	Когорта, n=402	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	$1,3 \pm 0,4$	$1,6 \pm 0,5$	$1,1 \pm 0,7$	$1,5 \pm 0,7$	$2,1 \pm 0,8$	$0,98 \pm 0,08$
	1,2 [1,2;1,4]	1,5 [1,4;1,5]	1,1 [1,1;1,2]	1,8 [1,5;1,8]	2,1 [2,1;2,4]	1,0 [0,9;1,2]
1-2, p	<0,001					
1А-2, p	<0,001					
1В-2, p	<0,001					
1С-2, p	<0,001					
1А-1В, p	<0,001					
1А-1С, p	0,007					
1В-1С, p	<0,001					

На фоне всех вышеуказанных изменений уровень LIF цервикальной слизи (пг/мл) (маркер и непосредственный участник процесса благополучной имплантации) был статистически значимо ($p < 0,001$) и максимально ниже в 1С-подгруппе, составив $23,6 \pm 3,3$ пг/мл (таблица 4.37). У пациенток подгруппы 1В на фоне умеренного ХЭ также наблюдалось статистически значимо меньшее значение уровня LIF ($28,3 \pm 2,1$ против $36,3 \pm 7,12$, $p < 0,001$), тогда как в 1А подгруппе при наличии изолированного овариального фактора, уровень LIF практически соответствовал результатам группы контроля. При составлении корреляционной матрицы, выявлена сильная положительная связь между ИГХ показателями LIF в эндометрии ($r=0,88$), что позволяет использовать уровень экспрессии LIF цервикального секрета как неинвазивный маркер рецепторной (имплантационной)

активности эндометрия. Также выявлена сильная отрицательная связь показателей LIF цервикального секрета с возрастом пациенток ($r=-0,98$) и уровнем мелатонина ПК ($r=-0,86$).

Таблица 4.37 – Уровень LIF в цервикальном секрете (пг/мл)

Показатель	1 группа, n=302	1А подгруппа, n=62	1В подгруппа, n=73	1С подгруппа, n=167	2 группа (контроль), n=50
M±SD	29,1±3,6	33,4±2,1	28,3±2,1	23,6±3,3	36,3±7,12
	29,1 [27,1;28,2]	32,3 [31,5;32,2]	28,2 [26,2;28,7]	22,6 [22,1;26,2]	35,7 [36,2;37,2]
1-2, p	Уровень <0,001				
1А-2, p	0,067				
1В-2, p	<0,001				
1С-2, p	<0,001				
1А-1В, p	<0,001				
1А-1С, p	<0,001				
1В-1С, p	<0,001				

Таким образом, комплексное исследование этиопатогенетических факторов, приводящих к бесплодию в позднем репродуктивном возрасте, свидетельствует о том, что даже в когорте условно здоровых женщин имеются существенные дефекты функционирования всей оси нейрогуморальной регуляции репродуктивной системы, отчетливо усугубляющиеся с возрастом пациенток. Кластеризация анамнестических данных и данных, полученных при первичном обследовании пациенток в течение первой неудачной попытки ЭКО, (показатели гормонального фона (ФСГ, ЛГ, эстрадиол, пролактин, прогестерон), содержание АМГ в сыворотке крови, число антральных фолликулов по данным УЗИ, толщина эндометрия в среднюю лютеиновую фазу, параметры фолликуло- и оогенеза, полученные в предыдущем цикле стимуляции), дали возможность классифицировать в когорте обследуемых три кластера (подгруппы), различающихся между собой по суммарному ряду признаков или факторов, объясняющих неудачную попытку ЭКО.

Расширенное дообследование на этапе прегравидарной подготовки к следующей попытке ЭКО внутри этих подгрупп подтвердило правильность

изначальной попытки выявить различия в этиопатогенетических механизмах формирования проблем реализации репродуктивной функции у данных пациенток, а также определило возможные пути преодоления infertility.

Так у пациенток 1А-подгруппы ведущим фактором бесплодия явился ооцитарный фактор, выражающийся в отсутствии оплодотворения при достаточном количестве полученных ооцитов. Учитывая, что возраст пациенток в среднем составил $37,6 \pm 3,0$ лет и у них имелись удовлетворительные показатели имплантационных резервов эндометрия, можно предположить наличие у данных пациенток мутации генов (PATL2, TUBB8, WEE2 и PAD16), изменение экспрессии которых приводит к нарушению созревания ооцитов в метафазе второго мейотического деления (MII) и к снижению способности ооцитов к полноценному оплодотворению и формированию эмбрионов [28, 242]. Для оптимизации тактики лечения данных пациенток может быть рекомендована генетическая диагностика с подтверждением подозреваемых мутаций в геноме и использование донорских ооцитов или эмбрионов. Пациентки 1В-подгруппы статистически значимо отличались от основной когорты обследуемых по критерию «возраст», который был минимальным и в среднем составил $36,39 \pm 3,28$ лет. При этом пациентки 1В-подгруппы, несмотря на мало отличающийся от группы контроля фолликулярный резерв и последующие результаты стимуляции суперовуляции, фолликуло- и оогенеза на этапе стандартной диагностики, имели косвенные признаки имплантационной несостоятельности эндометрия (толщина эндометрия в средней фолликулярной фазе составила $9,4 \pm 1,2$ мм, против $13,4 \pm 1,2$ мм в группе контроля, $p < 0,001$). Произошло уменьшение функционального слоя эндометрия у пациенток 1В подгруппы, рецепторов к эстрогенам и прогестерону как в железах, так и в строме эндометрия. Например, экспрессия ER (КЖЭ) составила $198,1 \pm 21,83$, а PR КЖЭ - $189,7 \pm 38,58$, против $134,1 \pm 40,47$ и $174,50 \pm 28,06$ в группе контроля соответственно ($p < 0,001$).

Существенное и максимальное увеличение рецепции в эндометрии к половым стероидам и одновременным уменьшением экспрессии к предиктору имплантации LIF у данных пациенток сопровождалось наличием ИГХ признаков

умеренно выраженного ХЭ с аутоиммунным компонентом в фазе обострения с выявлением у бактериального и вирусного обсеменения эндометрия условно патогенной и патогенной микрофлоры. Результаты ИГХ и микробиологического обследования ткани эндометрия сопрягались с данными, полученными из цервикального секрета, где выявлялся провоспалительный цитокиновый сдвиг, и косвенно подтвержденное соотношением $TGF\beta 1/VEGF$ умеренного преобладания процессов фиброза над процессами ангиогенеза, очевидно на фоне ХЭ. На основании этих данных, предполагаемой индивидуализации лечения у пациенток подгруппы 1В послужит следующая схема (схема 1): антибактериальная и противовирусная терапия (в зависимости от выявленного инфекционного агента и его чувствительности); с целью коррекции локального иммунного дисбаланса предполагается использование ультразвуковой кавитации полости матки с использованием физиологического раствора; с целью реабилитации рецепторной чувствительности эндометрия будет использоваться курс циклической гормональной терапии; учитывая наличие умеренно выраженного преобладания процессов фиброза над процессами ангиогенеза, предполагается ректальное применение бовгиалуронидазы азоксимера как препарата, способного деполимеризовать матрикс соединительной ткани и подавлять процесс фиброза, за счет обратной регуляторной реакции синтеза компонентов соединительной ткани.

Пациентки 1С подгруппы были наиболее возрастными ($38,2\pm 3,92$ лет). При стандартном обследовании перед программой ЭКО у них были выявлены предварительные дефекты овариального фактора (сниженный фолликулярный резерв) и имплантационного фактора («тонкий эндометрий»). В ходе цикла ЭКО к ним были применены соответствующие ситуации стандартной схемы прегравидарной подготовки и схемы стимуляции овуляции, но в результате, несмотря на получение малого количества эмбрионов и их перенос, результат цикла оказался отрицательным.

При дополнительном расширенном обследовании на этапе прегравидарной подготовки к следующему циклу ЭКО нами были выявлены выражено измененные параметры нейрогормональной регуляции менструально-

овариального цикла (увеличение ФСГ и ЛГ, снижение уровня прогестерона и эстрадиола, уменьшение экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону и LIF как в железах, так и в строме эндометрия). Экспрессия ER КЖЭ 1С подгруппы составила $107,5 \pm 40,31$, а PR КЖЭ - $138,5 \pm 37,05$, против $134,1 \pm 40,47$ и $174,50 \pm 28,06$ в группе контроля соответственно ($p < 0,001$). При расширенном исследовании имплантационного фактора эндометрия, у части пациенток 1С подгруппы определялись признаки слабо выраженного аутоиммунного ХЭ со слабой активацией в отсутствии патологической микрофлоры, снижение экспрессии LIF в эндометрии и его уровня в цервикальном секрете, максимально выраженное повышение коэффициента $TGF\beta 1/VEGF-A$ ($2,1 \pm 0,8$ у.е против $0,98 \pm 0,08$ у.е в контроле, $p < 0,001$), что косвенно свидетельствует о возможном преобладании процессов фиброза над васкуляризацией, что и обеспечивает высокорезистентный кровоток в сосудах матки. При этом обращало на себя внимание максимальное снижение уровня мелатонина в ПК и ФЖ ($p < 0,001$), а также максимально выраженный оксидативный стресс в микроокружении яйцеклетки за счет снижения активности супероксиддисмутазы и повышения уровня малонового диальдегида.

Учитывая данные корреляционной матрицы, указывающие на сильные статистические взаимосвязи между уровнями мелатонина, центральным и периферическим дисгормональным и оксидативным стрессом у пациенток подгруппы 1С, возможно предположить, что одним из патогенетических моментов нарушения процессов фолликулогенеза и рецепторной недостаточности эндометрия у пациенток 1С подгруппы является дефицит пинеальной и экстрапинеальной секреции мелатонина. На основании этих данных мы предположили, что коррекция пинеального дефицита, введенная в комплекс прегравидарной подготовки, может улучшить эффективность программ ЭКО у пациенток 1С подгруппы. Причем, учитывая необходимость стимуляции синтеза мелатонина как в эпифизе, так и в яичниках в качестве триггера нами планировалось использование препарата, содержащего низкомолекулярные водорастворимые полипептидные фракции, выделенные из эпифиза крупного рогатого скота, показанного при дефиците эндогенного мелатонина. Предыдущими

исследованиями было установлено, что, помимо своего основного действия (уменьшения вегетативных нарушений, ассоциированных с менопаузой), препарат может позитивно воздействовать на фолликулогенез и репродуктивную функцию у женщин с преждевременной недостаточностью яичников [5, 14].

Дополнительно к вышеуказанным лечебным мероприятиям у пациенток данной группы также будет применен курс циклической гормональной терапии для восстановления имплантационной недостаточности эндометрия.

С целью коррекции максимально нарушенных взаимоотношений между ростовыми факторами TGF β 1 и VEGF-A в эндометрии у пациенток 1С подгруппы, косвенно подтверждающих активные фиброобразующие процессы в эндометрии, предполагается введение в комплексную прегравидарную терапию усиленного курса (последовательное внутримышечное и ректальное введение) бовгиалуронидазы азоксимера (схема 2 и 3).

Всем пациенткам, учитывая неудачную попытку ЭКО в анамнезе, поздний репродуктивный возраст, отсутствие естественной овуляции у всех пациенток основной группы, имеющуюся у пациенток 1С подгруппы функциональную недостаточность яичников и слабую реакцию яичников на стимуляцию, а также увеличение эффективности ЭКО у пациенток с криопереносом по сравнению с переносом в цикле суперовуляции, по данным проведенного нами ретроспективного анализа, желательно использование криопротокола.

ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИНАМИКИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА ФОНЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ПРЕГРАВИДАРНОЙ ПОДГОТОВКИ

Всем пациенткам 1В подгруппы была проведена антибактериальная и/или противовирусная терапия (деконтаминация) в зависимости от чувствительности микрофлоры с последующим этапом контаминации. Прегравидарная подготовка согласно «Схеме 1», примененная у пациенток 1В подгруппы, способствовала восстановлению нормального микробиоценоза полости матки.

ОБМ составила в среднем 110,4 ГЭ/мл при относительном количестве лактобацилл 103,5 ГЭ/мл, что соответствовало 0,1(log) от ОБМ, облигатно-анаэробные микроорганизмы выявлялись с частотой 8,2% совокупно в количестве менее 10^4 копий в образце.

Отмечена 100% иррадикация условно-патогенной и патогенной микрофлоры (таблица 5.1).

На фоне проведенной санации полости матки, нами было отмечено статистически значимое снижение уровня антимикробного белка LL37 практически до результатов контрольной группы (исходно $p < 0,001$, после ПГ $p = 0,034$) и статистически значимое снижение провоспалительного индекса до $0,87 \pm 0,3$ у.е. ($p < 0,001$), что также соответствует параметрам группы контроля ($0,86 \pm 0,02$ у.е) (после ПГ $p = 0,132$). Причем снижение данного показателя произошло как за счёт снижения IL6, так и за счет увеличения противовоспалительного IL10 ($p < 0,001$ для обоих параметров) (таблица 5.2).

Таблица 5.1 – Динамика частоты выявления микроорганизмов в эндометрии, (абс/%) у пациенток подгруппы 1В после прегравидарной подготовки

Показатель	1В подгруппа, n=73		2 группа (контроль), n=50		p, 1В/2- подгруппа
	абс	%	абс	%	
Lactobacillus spp.	45	61,6	78	78	p<0,001
сем. Enterobacteriaceae	4	5,4	2	2	p<0,001
Eubacterium spp.	6	8,2	4	4	p<0,001
Staphylococcus spp.	-	-	-	-	-
Streptococcus spp.	-	-	-	-	-
Gardnerella vaginalis+ Prevotellabivia + Porphyromonas spp	6	8,2	3	3	p<0,001
Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp	-	-	-	-	-
Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.	-	-	-	-	-
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp	-	-	-	-	-
Mobiluncus spp. + Corynebacterium spp	-	-	-	-	-
Peptostreptococcus spp	-	-	-	-	-
Atopobiumvaginale	-	-	-	-	-
Candida spp	-	-	3	6,0	-
Mycoplasma hominis	-	-	-	-	-
Ureaplasma (urealyticum + parvum)	-	-	-	-	-
Mycoplasma genitalium	-	-	-	-	-
Chlamydia trachomatis	-	-	-	-	-
Вирус простого герпеса 1/2 тип	-	-	-	-	-
Цитомегаловирус	-	-	-	-	-

Таблица 5.2 – Динамика ПВИ и кателицидина в цервикальной слизи у пациенток подгруппы 1В после прегравидарной подготовки

Параметры		1В подгруппа, n=73	2 группа (контроль), n=50	p (подгруппа 1В) исходно/после ПГ
LL37, пг/мл	исходно	56,7± 7,1	32,8 ± 6,7	p<0,001
	после ПГ	34,2±5,2		
ПВИ (IL6/ IL10) у.е.	исходно	1,7±0,7	0,86±0,02	p<0,001
	после ПГ	0,87±0,3		

Циклическая гормонотерапия, включенная в «Схему 1», способствовала статистически значимому уменьшению уровня ФСГ и ЛГ (6,9±2,6 МЕ/л и 7,9±2,1 МЕ/л против 7,7±2,3 МЕ/л и 9,8±3,55 МЕ/л исходно, p<0,001). Также отмечалось некоторое увеличение периферических гормонов (Е2 и прогестерон), приблизившее итоговые результаты лабораторной диагностики гормонального профиля к показателям, полученным от пациенток группы контроля (Е2 - 255,7±72,4 пг/мл – 1В подгруппа, 250,6±26,9 пг/мл – 2 группа, p=0,046; прогестерон 34,7±12,2 пг/мл и 34,8±18,3 пг/мл соответственно, p=0,547) (таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Динамика уровня гонадотропных и половых гормонов в периферической крови пациенток 1В-подгруппы после проведенной прегравидарной подготовки

Параметры		1В-подгруппа, n=73	2 группа (контроль), n=50	p (1В подгруппа) исходно/после ПГ
ФСГ, мМЕ/мл	исходно	7,7±2,3	5,4±1,6	p<0,001
	после ПГ	6,9±2,6		
ЛГ, мМЕ/мл	исходно	9,8±3,55	7,5±3,4	p<0,001
	после ПГ	7,9±2,1		
Е2 (эстрадиол) пг/мл	исходно	247,5±38,6	250,6±26,9	p<0,001
	после ПГ	255,7±72,4		
Прогестерон пг/мл	исходно	31,4±16,9	34,8±18,3	p<0,001
	после ПГ	34,7±12,2		

Уровни мелатонина ПК и ФЖ у пациенток 1В подгруппы не изменились. В план терапии не входило прямое воздействие на данное звено в связи с отсутствием выраженных исходных изменений (таблица 5.4).

Таблица 5.4 – Динамика уровня мелатонина у пациенток подгруппы 1В после

прегравидарной подготовки

Параметры		1В-подгруппа, n=36	2 группа (контроль), n=50	p (подгруппа 1В) исходно/после ПГ
Мелатонин (ПК), пг/мл	исходно	26,6±4,23	28,9±2,43	0,143
	после ПГ	27,3±3,32		
Мелатонин (ФЖ), пг/мл	исходно	36,3±1,4	39,6±1,6	0,254
	после ПГ	36,6±1,8		

На фоне противовоспалительной терапии мы отметили статистически значимое увеличение уровня SOD ($p < 0,001$) и уменьшение концентрации MDA ($p < 0,001$), за счет чего статистически значимо увеличился коэффициент антиоксидантной активности ФЖ, который максимально приблизился к результатам контрольной группы (1В подгруппа – 0,75 [0,77;0,81] у.е., против 0,9 [0,89;1,1] у.е. в контрольной группе), хотя и имел статистически достоверное различие ($p < 0,001$) (таблица 5.5).

Таблица 5.5 – Динамика уровня анти- и прооксидантных ферментов в фолликулярной жидкости после прегравидарной подготовки

Параметры		1В-подгруппа, n=36	2 группа (контроль), n=50	p (1В-подгруппа) исходно/после ПГ
SOD, (мМЕ/мг)	исходно	41,3 [37,5; 44,6]	52,6 [45,5;55,7]	<0,001
	после ПГ	43,7 [41,3;47,7]		
MDA (µM)	исходно	0,63 [0,59;0,69]	0,59 [0,54;0,69]	<0,001
	после ПГ	0,57 [0,64;0,71]		
SOD/MDA/100, (у.е.)	исходно	0,66 [0,59;0,8]	0,9 [0,89;1,1]	<0,001
	после ПГ	0,75 [0,77;0,81]		

Оценка изменения концентрации LIF в цервикальной слизи (ЦС) на фоне прегравидарной подготовки, показала статистически значимые различия показателя от исходных параметров, уровень LIF увеличился до 34,4±5,4 пг/мл, что практически соответствовало показателям группы контроля (36,3±7,12 пг/мл)

($p < 0,001$). Антимедиаторная активность и противофиброзирующая активность бовгиалуронидазы азоксимера в составе комплексной прегравидарной подготовки, примененной к пациенткам подгруппы 1В, привели к статистически значимому снижению индекса TGF β 1/VEGF-A, который после ПГ составил $1,1 \pm 0,5$ у.е. против $1,5 \pm 0,7$ у.е. исходно, $p = 0,036$, приблизив этот показатель к результатам контрольной группы $0,98 \pm 0,08$ у.е., $p = 0,231$ (таблица 5.6).

Таблица 5.6 – Динамика индекса TGF β 1/VEGF-A и LIF в цервикальной слизи у пациенток 1В-подгруппы после прегравидарной подготовки

Параметры		1В подгруппа, n=73	2 группа (контроль), n=50	p (1В подгруппа) исходно/после ПГ
TGF β 1/VEGF-A	исходно	$1,5 \pm 0,7$	$0,98 \pm 0,08$	$p = 0,036$
	после ПГ	$1,1 \pm 0,5$		
LIF, пг/мл	исходно	$28,3 \pm 2,1$	$36,3 \pm 7,12$	$p < 0,001$
	после ПГ	$34,4 \pm 5,4$		

После проведения прегравидарной подготовки у женщин 1В подгруппы по результатам УЗИ количество антральных фолликулов оставалось прежним и примерно совпадало с параметрами нормального фолликулярного резерва, при этом толщина эндометрия в средней секреторной фазе значительно увеличилась до $12,4 \pm 1,5$ мм, что составило статистически значимую разницу с параметрами, определяемыми исходно $9,4 \pm 1,6$ мм, $p < 0,001$ (таблица 5.7).

Таблица 5.7 – Динамика параметров ультразвукового исследования женских половых органов пациенток 1В-подгруппы после прегравидарной подготовки

Параметры		1В подгруппа, n=73	2 группа (контроль), n=50	p (1В подгруппа) исходно/после ПГ
КАФ	исходно	$7,4 \pm 1,7$	$9,5 \pm 1,8$	$p = 0,132$
	после ПГ	$7,8 \pm 1,7$		
Толщина эндометрия, мм	исходно	$9,4 \pm 1,6$	$13,4 \pm 1,2$	$p < 0,001$
	после ПГ	$12,4 \pm 1,5$		
IR (МА)	исходно	$0,89 \pm 0,04$	$0,83 \pm 0,04$	$p < 0,001$
	после ПГ	$0,82 \pm 0,05$		
PI (МА)	исходно	$3,01 \pm 0,1$	$2,46 \pm 0,01$	$p < 0,001$
	после ПГ	$2,5 \pm 0,2$		

Нашими данными подтверждено, что дифференцированная прегравидарная

подготовка у данных больных (1В-подгруппа) позволила улучшить гемодинамику в маточных артериях (МА), о чем свидетельствует статистически значимое снижение IR (МА) и PI (МА) до $0,82 \pm 0,05$ и $2,5 \pm 0,2$ соответственно, $p < 0,001$ для обоих параметров. Данные показатели максимально приблизились к результатам группы контроля (IR МА - $0,83 \pm 0,04$ ($p=0,145$) и PI МА - $2,46 \pm 0,01$ ($p=0,213$)).

Показатели гемодинамики маточной артерии имели сильную прямую корреляционную связь ($r=0,82$) с индексом TGF β 1/VEGF-A как в исходных изменениях, так и после проведения прегравидарной подготовки, что косвенно указывает на необходимость коррекции данного звена. На этапе стимуляции суперовуляции, проводимой в этой группе по «Схеме стимуляции 1», у пациенток в подгруппе 1В не было отмечено статистически значимых изменений параметров фолликуло- и оогенеза, они соответствовали исходным данным, статистически значимо отличались от пациенток более молодого возраста, но были в пределах перспективных значений для ЭКО. Общее количество фолликулов составило $18,9 \pm 2,1$, общее количество аспирированных ооцитов – $17,1 \pm 1,3$, при этом среднее число ооцитов во 2 фазе мейоза составило $12,9 \pm 1,3$ и было достаточным для удовлетворительного оплодотворения (таблица 5.8).

Таблица 5.8 – Параметры индуцированного цикла у пациенток подгруппы 1В после проведения прегравидарной подготовки

Показатель		1В подгруппа, n=73	2 группа (контроль), n=50	p (1В подгруппа) исходно/после ПГ
Общее количество фолликулов	исходно	$18,6 \pm 1,2$	$28,3 \pm 2,2$	0,423
	после ПГ	$18,9 \pm 2,1$		
Общее количество аспирированных ооцитов	исходно	$16,3 \pm 1,6$	$17,3 \pm 1,5$	0,134
	после ПГ	$17,1 \pm 1,3$		
Среднее число ооцитов МII	исходно	$12,3 \pm 1,4$	$14,2 \pm 1,5$	0,187
	после ПГ	$12,9 \pm 1,3$		
Количество незрелых ооцитов Кне	исходно	$1,3 \pm 1,1$	$2,1 \pm 0,5$	0,151
	после ПГ	$1,5 \pm 1,3$		

В итоге среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов, частота оплодотворения, среднее число бластоцист на пациентку, безусловно, имели статистически значимое различие с результатами группы контроля (2 группа), но привели к 100% показателю частоты витрификации эмбрионов и последующего переноса на фоне ЦГТ. Всего было витрифицировано 164 эмбриона (в среднем 2,24 на пациентку), из них в анализируемом нами цикле переноса разморожено и перенесено 73 (1 на пациентку) (таблица 5.9).

Таблица 5.9 – Особенности оогенеза и эмбриогенеза у пациенток подгруппы 1В после проведения прегравидарной подготовки

Показатель		1В подгруппа, n=73	2 группа (контроль), n=50	p (1В подгруппа) исходно/после ПГ
Среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов (2PN)	исходно	8,2±1,2	11,3±1,4	0,145
	после ПГ	8,7±1,3		
Частота оплодотворения (%)	исходно	68,4±6,4	82,2±8,3	0,135
	после ПГ	69,3±6,6		
Среднее число бластоцист на пациентку	исходно	8,3±1,1	11,3±1,4	0,247
	после ПГ	9,2±1,3		
Среднее число бластоцист отличного/ хорошего качества	исходно	6,2±0,4	10,2±0,7	0,165
	после ПГ	5,8±0,3		

В качестве итогового результата реализации мероприятий в рамках персонализированной системной прегравидарной подготовки можно отметить: доля женщин, которые сформировали 1В подгруппу и у которых наступила биохимическая беременность – это 50,7%, или 37 из 73 человек, что соответствовало средним показателям отчета РАРЧ (2020 г.). В ходе гестации у 2 (2,7%) пациенток произошел самопроизвольный выкидыш на 7-8 неделе беременности и у 1 (1,4%) выявлена замершая беременность на 10 неделе (таблица

5.10). В итоге живорождение у пациенток 1В-подгруппы составило 32,9%.

Таблица 5.10 – Исходы программ ЭКО у пациенток подгруппы 1В после проведения прегравидарной подготовки

Показатель		1В подгруппа, n=73	2 группа (контроль), n=50	p (1В подгруппа) исходно/после ПГ
Количество перенесенных эмбрионов в полость матки	исходно	82	58	0,246
	после ПГ	73		
	после ПГ	24 (32,9%)		
Частота наступления биохимической беременности на начатый цикл и перенос эмбрионов, абс.(%)	исходно	21 (30,8%)	28 (56%)	0,134
	после ПГ	37 (50,7%)		
Частота наступления клинической беременности на начатый цикл и перенос эмбрионов, абс.(%)		0		
		27 (37,0%)		
Живорождение, на начатый цикл и перенос эмбрионов, абс.(%)	исходно	0	25 (50%)	p<0,001
	после ПГ	24 (32,9%)		

Таким образом, несмотря на имеющиеся потери, эффективность ЭКО у женщин позднего репродуктивного возраста, которые прошли предварительную подготовку с коррекцией дисфункции эпифиза (1С2 подгруппа), приблизилась к средней эффективности ЭКО, составляющей 30-35% (РАРЧ, 2022).

У пациенток 1С подгруппы исходно имелись сочетанные нарушения овариального фактора и имплантационных возможностей эндометрия с преимущественным наличием слабо выраженного аутоиммунного ХЭ. Кроме того, у этих пациенток обнаружена эпифизарная дисфункция, подтверждаемая сниженным уровнем мелатонина. У 26 (15,6%) пациенток 1С подгруппы в посевах эндометрия была выявлена патогенная и условно-патогенная инфекция, и им был

проведен курс антибактериальной и/или противовирусной терапии, направленный на элиминацию инфекционного агента. С целью коррекции максимально нарушенных взаимоотношений между ростовыми факторами TGF β 1 и VEGF-A в эндометрии у пациенток 1С подгруппы, косвенно подтверждающих активные фиброзирующие процессы в эндометрии, в комплексную терапию введен усиленный курс бовгиалуронидазы азоксимера (последовательное внутримышечное и интравагинальное введение).

С целью коррекции впервые выявленного эпифизарного дефицита, разработана прегравидарная терапия с включением препарата эпифиза, стимулирующего выработку мелатонина. Для оценки сравнительной эффективности терапии, проведено рандомизированное разделение пациенток подгруппы 1С на дополнительные две подгруппы. Пациенткам 1С1 подгруппы – 83 женщины – назначен стандартный прегравидарный эстроген-гестагенный прайминг (схема 2), а пациенткам 1С2 подгруппы (84 женщины) в сочетании с обозначенным препаратом был добавлен препарат эпифиза, который ведет к стимуляции увеличения объема выработки мелатонина (схема 3). При проведении контрольного обследования после прегравидарной подготовки в подгруппах 1С1 и 1С2 выявлено статистически значимое снижение уровня кателицидина ($p < 0,001$) и ПВИ (IL6/IL10) ($p = 0,034$ и $p = 0,023$) до результатов контрольной группы (2 группа) ($p = 0,145$ и $p = 0,675$ соответственно) (таблица 5.11).

Таблица 5.11 – Динамика ПВИ и кателицидина в цервикальной слизи после прегравидарной подготовки

Параметры		1С1 подгруппа, n=83	1С2 подгруппа, n=84	2 группа (контроль), n=50	p (1С1 подгруппа) исходно /после ПГ	p (1С2 подгруппа) исходно /после ПГ
LL37, пг/мл	исходно	49,3 \pm 4,1	48,9 \pm 3,9	32,8 \pm 6,7	<0,001	<0,001
	после ПГ	33,3 \pm 6,3	32,9 \pm 5,7			
ПВИ (IL6/ IL10), у.е.	исходно	0,89 \pm 0,3	0,88 \pm 0,4	0,86 \pm 0,02	0,034	0,023
	после ПГ	0,86 \pm 0,3	0,86 \pm 0,2			

Также мы отметили статистически значимое снижение индекса TGFβ1/VEGF-A в подгруппах 1С ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ для обоих показателей). Снижение индекса, выражающего соотношение процессов фиброза и ангиогенеза, косвенно указывает на улучшение имплантационного потенциала эндометрия (таблица 5.12).

Таблица 5.12 – Динамика индекса TGFβ1/VEGF-A и LIF в цервикальной слизи после прегравидарной подготовки

Параметры		1С1- подгруппа, n=83	1С2- подгруппа, n=84	2 группа (контроль), n=50	p (1С1- подгруппа) исходно/ после ПГ	p (1С2- подгруппа) исходно/ после ПГ
TGFβ1/V EGF-A, у.е.	исходно	2,1±0,8	2,1±0,8	0,98±0,08	<0,001	<0,001
	после ПГ	1,1±0,9	1,0±0,5			

Стандартная ЦГТ (пациентки подгруппы 1С1) практически не влияла на увеличение уровня мелатонина в ПК (10,7±2,1 пг/мл и 11,2±2,1 пг/мл, $p=0,436$) и ФЖ (22,7±0,7 пг/мл и 23,5±1,2 пг/мл) (таблица 5.13).

Таблица 5.13 – Динамика уровня мелатонина у пациенток подгруппы 1С после прегравидарной подготовки

Параметры		1С1 подгруппа, n=45	1С2 подгруппа, n=47	2 группа (контроль), n=50	p (1С1 подгруппа) исходно/ после ПГ	p (1С2 подгруппа) исходно/ после ПГ
Мелатонин (ПК), пг/мл	исходно	10,7±2,1	10,7±2,1	28,9±2,4	0,436	<0,001
	после ПГ	11,2±2,1	25,3±1,2			
Мелатонин (ФЖ), пг/мл	исходно	22,7±0,7	22,7±0,7	39,6±1,6	0,387	<0,001
	после ПГ	23,5±1,2	34,8±1,6			

Тогда как дополнительное применение в объеме ПГ комплекса водорастворимых полипептидных фракций эпифиза в 1С2 подгруппе, привело к выраженному статистически значимому увеличению уровня мелатонина ПК (10,7±2,1 пг/мл исходно и 25,3±1,2 пг/мл после ПГ, $p < 0,001$) и мелатонина ФЖ

($22,7 \pm 0,7$ пг/мл и $34,8 \pm 1,6$ пг/мл соответственно, $p < 0,001$). Полученные после проведения ПГ средние уровни мелатонина сохраняли статистически значимые отличия от результатов контрольной группы ($p < 0,001$ для обоих показателей), однако максимально приблизились к ним.

Применение стандартной циклической гормонотерапии (ЦГТ) у пациенток 1С1 подгруппы привело к статистически значимому снижению уровней ФСГ ($11,8 \pm 4,1$ МЕ/л против $9,1 \pm 1,8$ МЕ/л, $p < 0,001$) и ЛГ ($11,4 \pm 3,4$ МЕ/л против $9,9 \pm 1,5$ МЕ/л, $p < 0,001$). Применение эпифизарных препаратов, стимулировавших синтез собственного мелатонина у пациенток 1С2 подгруппы, способствовало более выраженному статистически значимому снижению уровней ФСГ по сравнению с 1С1 подгруппой ($11,9 \pm 3,9$ пг/мл исходно против $7,1 \pm 1,4$ пг/мл после ПГ, $p < 0,001$) и ЛГ ($11,4 \pm 3,1$ пг/мл и $7,9 \pm 1,7$ соответственно, $p < 0,001$).

Таблица 5.14 – Динамика уровня гонадотропных и половых гормонов в периферической крови после прегравидарной подготовки

Параметры		подгруппа 1С1, n=83	подгруппа 1С2, n=84	2 группа (контроль), n=50	p (подгруппа 1С1) исходно/после ПГ	p (подгруппа 1С2) исходно/после ПГ
ФСГ, МЕ/л	исходно	$11,8 \pm 4,1$	$11,9 \pm 3,9$	$5,5 \pm 1,6$	$< 0,001$	$< 0,001$
	после ПГ	$9,1 \pm 1,8$	$7,1 \pm 1,4$			
ЛГ, МЕ/л	исходно	$11,4 \pm 3,4$	$11,4 \pm 3,1$	$7,6 \pm 3,5$	$< 0,001$	$< 0,001$
	после ПГ	$9,9 \pm 1,5$	$7,9 \pm 1,7$			
Е2 (эстрадиол), пг/мл	исходно	$153,2 \pm 41,1$	$153,2 \pm 141,1$	$250,6 \pm 126,9$	$< 0,001$	$< 0,001$
	после ПГ	$208,1 \pm 27,2$	$265,1 \pm 23,4$			
Прогестерон, пг/мл	исходно	$24,5 \pm 8,2$	$25,5 \pm 10,4$	$34,9 \pm 18,4$	$< 0,001$	$< 0,001$
	после ПГ	$31,5 \pm 9,4$	$34,5 \pm 8,9$			

Нормализация показателей гипоталамо-гипофизарной оси регуляции МЦ по принципу обратной отрицательной связи у пациенток 1С2 подгруппы, отразилась на функции периферических звеньев с активацией фолликулогенеза и возрастанием продукции эстрадиола яичниками ($153,2 \pm 141,1$ пг/мл исходно и

265,1±23,4 пг/мл после ПГ, $p<0,001$) и прогестерона (25,5±10,4 пг/мл и 34,5±8,9 пг/мл, $p<0,001$) до результатов группы контроля (2 группа) (таблица 5.14).

По исходным параметрам уровень антиоксидантной активности был наименьшим у пациенток 1С подгруппы. Стандартная прегравидарная подготовка, проведенная пациенткам 1С1 подгруппы, практически не отразилась на параметрах антиоксидантной и прооксидантной активности ФЖ. Так уровень SOD после ПГ у пациенток 1С1 подгруппы составил 33,7 [29,3; 37,7] мМЕ/мг против 32,4 [30,6;34,1] мМЕ/мг исходно ($p=0,043$), концентрация MDA – 0,87 [0,84;0,96] μM против 0,89 [0,85;0,93] μM исходно ($p=0,045$). Индекс антиоксидантной активности SOD/MDA, соответственно, составил 0,39 [0,39;0,42] у.е. против 0,37 [0,34;0,41] у.е. исходно ($p=0,032$) (таблица 5.15).

В 1С2 подгруппе наблюдалась позитивная динамика показателей антиоксидантной защиты. Прегравидарная подготовка с включением в комплекс терапии эпифизарных гормонов, стимулирующих выработку мелатонина, привела к статистически значимому увеличению антиоксидантной активности ФЖ. Коэффициент SOD/MDA составил 0,68 [7,3;7,8] у.е. против 0,37 [0,34;0,41] у.е. исходно ($p<0,001$).

Изменение антиоксидантной активности наблюдалось за счет равнозначного статистически достоверного увеличения уровня SOD (42,7 [51,2;56,4] мМЕ/мг против 32,4 [30,6;34,1] мМЕ/мг исходно, $p<0,001$) и уменьшения концентрации MDA (0,62 [0,67;0,83] μM против 0,89 [0,85;0,93] μM исходно, $p<0,001$). Так как данные изменения имели сильно выраженную положительную корреляционную взаимосвязь с повышением уровня мелатонина ФЖ (r (мелатонин ФЖ/коэффициент SOD/MDA)=0,87), а также учитывая известные антиоксидантные эффекты мелатонина [174], можно предположить, что именно мелатониновый прайминг привел к столь активному усилению антиоксидантной активности ФЖ (таблица 5.15).

Таблица 5.15 – Динамика уровня анти- и прооксидантных ферментов в фолликулярной жидкости после прегравидарной подготовки

Параметры		1С1- подгруппа, n=45	1С2- подгруппа, n=47	2 группа (контроль), n=50	p (1С1-подгруппа) исходно/после ПГ	p (1С2-подгруппа) исходно/после ПГ
SOD, (мМЕ/мг)	исходно	32,4 [30,6;34,1]	32,4 [30,6;34,1]	52,6 [45,5;55,7]	0,043	<0,001
	после ПГ	33,7 [29,3;37,7]	42,7 [51,2;56,4]			
MDA, (μM)	исходно	0,89 [0,85;0,93]	0,89 [0,85;0,93]	0,59 [0,54; 0,69]	0,045	<0,001
	после ПГ	0,87 [0,84;0,96]	0,62 [0,67;0,83]			
SOD/MDA/100, (y.e.)	исходно	0,37 [0,34;0,41]	0,37 [0,34;0,41]	0,9 [0,89;1,1]	0,032	<0,001
	после ПГ	0,39 [0,39;0,42]	0,68 [7,3;7,8]			

Вероятно, стабилизация окислительного гомеостаза в фолликулах на фоне увеличения локального мелатонина и привела к максимальному улучшению фолликулогенеза и параметров имплантационного фактора у пациенток подгруппы 1С2 в естественном цикле. Так КАФ после ПГ выросло до $6,6 \pm 1,1$ против $3,4 \pm 1,8$ исходно ($p < 0,001$), статистически значимо увеличилась толщина эндометрия – до $10,2 \pm 1,9$ мм против $4,4 \pm 1,2$ мм исходно ($p < 0,001$), а также улучшились показатели гемодинамики в маточных артериях ($p < 0,001$ для всех показателей). Однако, несмотря на проводимое лечение, результаты ультразвукового анализа функционирования яичников и маточных структур статистически значимо отличались от показателей группы контроля ($p < 0,001$ для всех показателей) даже у пациенток подгруппы 1С2. При этом применение стандартной прегравидарной подготовки пациенток привело к значительно менее выраженному улучшению параметров фолликулогенеза и увеличению функционального слоя эндометрия, однако и эти изменения позволили осуществить ЭКО (КАФ $4,6 \pm 1,1$ и ТЭ $8,2 \pm 1,3$ мм) (таблица 5.16).

Таблица 5.16 – Динамика параметров ультразвукового исследования женских половых органов после прегравидарной подготовки

Параметры		1С1- подгруппа, n=83	1С2- подгруппа, n=84	2 группа (контроль), n=50	p (1С1- подгруппа) исходно /после ПГ	p (1С2- подгруппа) исходно /после ПГ
КАФ	исходно	3,4±1,8	3,4±1,8	9,5±1,8	p<0,001	p<0,001
	после ПГ	4,6±1,1	6,6±1,1			
Толщина эндометрия, мм	исходно	4,4±1,2	4,4±1,2	13,4±1,2	p<0,001	p<0,001
	после ПГ	8,2±1,3	10,2±1,9			
IR (МА)	исходно	0,9±0,04	0,9±0,04	0,83±0,04	p<0,001	p<0,001
	после ПГ	0,85±0,04	0,85±0,04			
PI (МА)	исходно	3,02±0,1	3,02±0,1	2,46±0,01	p<0,001	p<0,001
	после ПГ	2,7±0,04	2,7±0,04			

В результате прегравидарной подготовки мы отметили статистически значимое повышение экспрессии маркера имплантации LIF в среднюю стадию фазы секреции, однако результаты, полученные у пациенток 1С1 подгруппы, сохраняли статистически значимое отличие от результатов 2 группы (контроль) (28,1±9,4 пг/мл и 36,3±7,12 пг/мл, соответственно, p=0,045) (таблица 5.17).

Таблица 5.17 – Динамика LIF в цервикальной слизи после прегравидарной подготовки

Параметры		1С1- подгруппа, n=83	1С2- подгруппа, n=84	2 группа (контроль), n=50	p (1С- подгруппа) исходно /после ПГ	p (1С2- подгруппа) исходно /после ПГ
LIF, пг/мл	исходно	23,6±3,3	22,9±2,9	36,3±7,12	p=0,045	<0,001
	после ПГ	28,1±9,4	34,3±6,5			

При этом комплексное воздействие элементов прегравидарной подготовки, применяемой пациентами подгруппы 1С2, привело к повышению экспрессии LIF практически до результатов контрольной группы (34,3±6,5 пг/мл против 36,3±7,12 пг/мл, p=0,034).

Стимуляция фолликулогенеза у всех пациентов 1С подгруппы, независимо от

способа прегравидарной подготовки, проводилась по «Схеме стимуляции овуляции 2». Все параметры стимулированного цикла в 1С1 подгруппе статистически значимо не отличались от исходных результатов. Общее количество фолликулов составило $4,6 \pm 1,3$ ($p=0,34$), аспирировано $3,5 \pm 1,5$ ($p=0,53$) ооцитов, из которых 80,2% находились во второй стадии мейоза (таблица 5.18).

Таблица 5.18 – Параметры индуцированного у пациенток 1С-подгруппы после проведения прегравидарной подготовки

Показатель		1С1-подгруппа, n=83	1С2-подгруппа, n=84	2 группа (контроль), n=50	p (1С-подгруппа) исходно / после ПГ	p (1С2-подгруппа) исходно / после ПГ
Общее количество фолликулов	исходно	$3,7 \pm 1,3$	$3,7 \pm 1,3$	$28,3 \pm 2,2$	$p=0,34$	$p < 0,001$
	после ПГ	$4,6 \pm 1,3$	$10,3 \pm 1,3$			
Общее количество аспирированных ооцитов	исходно	$3,3 \pm 1,3$	$3,3 \pm 1,3$	$17,3 \pm 1,5$	$p=0,53$	$p < 0,001$
	после ПГ	$3,5 \pm 1,5$	$10,2 \pm 2,3$			
Среднее число ооцитов МП	исходно	$3,1 \pm 1,1$	$3,1 \pm 1,1$	$14,2 \pm 1,5$	$p=0,76$	$p < 0,001$
	после ПГ	$3,2 \pm 1,4$	$8,2 \pm 1,4$			
Количество незрелых ооцитов	исходно	$0,6 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,5$	$p=0,82$	$p < 0,001$
	после ПГ	$0,5 \pm 0,6$	$1,2 \pm 0,3$			

После проведения процедуры ЭКО среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов составило $3,0 \pm 1,2$ против $2,6 \pm 0,9$ исходно ($p=0,5$). Количество среднего числа бластоцист отличного/хорошего качества также не имело тенденции к увеличению – $0,7 \pm 0,01$ против $0,7 \pm 0,02$ исходно ($p=0,15$) (таблица 5.19). Таким образом, все эти показатели оогенеза и эмбриогенеза у пациенток 1С1 подгруппы существенно отличались от показателей других подгрупп (группы 2 контроль и подгруппы 1В). Всего было витрифицировано 22 эмбриона: в среднем 0,26 на пациентку (таблица 5.19).

Таблица 5.19 – Особенности оогенеза и эмбриогенеза у пациенток 1С-подгруппы после проведения прегравидарной подготовки

Показатель		1С1- подгруппа, n=83	1С2- подгруппа, n=84	2 группа (контроль), n=50	p (1С- подгруппа) исходно/ после ПГ	p (1С2- подгруппа) исходно/ после ПГ
Среднее число нормально оплодотворив- шихся ооцитов (2PN)	исходно	2,6±0,9	2,6±0,9	11,3±1,4	p=0,5	p<0,001
	после ПГ	3,0±1,2	7,5±1,2			
Частота оплодотворения (%)	исходно	27,3±5,4	27,3±5,4	82,2±8,3	p=0,07	p<0,001
	после ПГ	32,3±6,8	52,3±6,8			
Морфологическая оценка эмбрионов на 3-и сутки (баллы)	исходно	2,2±0,7	2,2±0,7	3,1±0,9	p=0,35	p=0,035
	после ПГ	2,6±0,5	2,6±0,5			
Среднее число бластоцист на пациентку	исходно	0,7±0,01	0,7±0,01	11,3±1,4	p=0,15	p<0,001
	после ПГ	0,7±0,02	4,2±0,02			
Среднее число бластоцист отличного/ хорошего качества	исходно	0,3±0,2	0,3±0,2	10,2±0,7	p=0,29	p<0,001
	после ПГ	0,5±0,2	5,3±0,6			

При проведении расширенной ПГ, корригирующей пинеальный дефицит (1С2 подгруппа (схема 3)), мы выявили статистически значимое изменение всех параметров стимулированного цикла. Общее количество фолликулов увеличилось до 10,3±1,3 (p<0,001), аспирировано 10,2±2,3 (p<0,001) ооцитов, из которых 84,2% находились во второй стадии мейоза (таблица 5.18). После проведения процедуры ЭКО среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов в 1С2 подгруппе составило 7,5±1,2 против 2,6±0,9 исходно (p<0,001). Статистически значимо увеличилось количество среднего числа бластоцист отличного/хорошего качества (5,3±0,6 против 0,5±0,2 (p<0,001)) (таблица 5.19). Безусловно, данные параметры статистически значимо отличались от результатов контрольной группы (2 группа), однако отмечалась более позитивная результативность по сравнению с 1С1 подгруппой (таблица 5.19).

В итоге перенос криоконсервированных и размороженных эмбрионов в 1С1

подгруппе состоялся у 19 (24,1%) пациенток, что статистически значимо не отличалось от исходных результатов, $p=0,07$. Однако, в отличие от исходных данных (неудачная попытка ЭКО в анамнезе), частота наступления биохимической беременности на перенос эмбрионов составила по отношению к начатому циклу 10 (12,1%), а по отношению на перенос эмбрионов – 10 (52,6%), что составило статистически значимую разницу с первым циклом ЭКО ($p<0,001$). Частота наступления клинической беременности на начатый цикл и перенос эмбрионов составила 8 (9,6% и 42,1%), а живорождения – 7 (8,4% и 36,8%), на начатый цикл и перенос, что статистически значимо отличалось от исходных параметров ($p<0,001$). Однако результативность ЭКО у пациентов 1С1 подгруппы была достаточно низкой как за счет эмбрионального, так и, вероятно, за счет имплантационного фактора.

Напротив, у пациенток 1С2 подгруппы количество витрифицированных размороженных и перенесенных эмбрионов составило 40 (47,6%), ($p<0,001$, $OR=3,1(1,5-5,8)$), по сравнению с 1С1 подгруппой. Частота биохимического наступления беременности на перенос эмбрионов составила в 1С2 подгруппе 29 (72,5%), отличное от 1С-подгруппы – 10 (52,6%) ($p<0,001$, $OR=1,7(1,3-3,8)$).

Частота наступления клинической беременности в подгруппе 1С2 составила 24 (28,5%) на начатый цикл и 24 (60,0%) на перенос эмбрионов ($p<0,001$, $OR=2,8(1,3-5,9)$).

Живорождение составило – 23 (27,3%) на цикл и 23 (57,5%) на перенос (произошел один самопроизвольный выкидыш на сроке 7-9 недель беременности), что статистически значимо отличалось от результатов подгруппы 1С1 ($p<0,001$, $OR=2,9(1,3-6,3)$) и ($p<0,001$, $OR=1,3(1,1-3,9)$) соответственно (таблица 5.20).

Таблица 5.20 – Исходы программ ЭКО у пациенток 1С-подгруппы после проведения прегравидарной подготовки

Показатель		1С1-подгруппа n=83	1С2-подгруппа, n=84	2 группа (контроль) n=50	р 1С-подгруппа исходно /после ПГ	р 1С2- подгруппа исходно /после ПГ
Количество перенесенные эмбрионов	исходно	18(21,6%)	17(20,2%)	50	p=0,07	p<0,001
	после ПГ	19(24,1%)	40(47,6%)			
Частота наступления биохимической беременности на начатый цикл, абс.(%)	исходно	4 (4,8%)	4 (4,8%)	27 (54%)	p<0,001	p<0,001
	после ПГ	10(12,1%)	29(34,5%)			
Частота наступления биохимической беременности на перенос эмбрионов, абс.(%)	исходно	4(22,2%)	4(23,5%)		p<0,001	p<0,001
	после ПГ	10(52,6%)	29(72,5%)			
Частота наступления клинической беременности на начатый цикл, абс.(%)	исходно	0		23 (46%)	p<0,001	p<0,001
	после ПГ	8(9,6%)	24 (28,5%)			
Частота наступления клинической беременности на перенос эмбрионов, абс.(%)	после ПГ	8(42,1%)	24(60%)		p<0,001	p<0,001
Живорождение на начатый цикл, абс.(%)	исходно	0		22 (44%)	p<0,001	p<0,001
	после ПГ	7(8,4%)	23 (27,3%)			
Живорождение на перенос эмбрионов, абс.(%)	после ПГ	7(36,8%)	23(57,5%)			

В результате успешность процедур ЭКО с использованием криопротокола у женщин старшего репродуктивного возраста, которым предшествовала прегравидарная подготовка к зачатию с коррекцией пениальной дисфункции (1С2 подгруппа), достигла уровня, близкого к среднестатистическому показателю успешности ЭКО в 30-35% (по данным РАРЧ за 2021 год), что является достойным результатом для этой категории пациенток.

Основные пункты данного, завершающего этапа исследования представлены

в опубликованной статье автора [53].

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В терминах репродуктивной медицины к позднему репродуктивному возрасту женщин относят период после 35 лет [1], который характеризуется снижением потенциала деторождения. Разные авторы оценивают вероятность наступления беременности у пациенток позднего репродуктивного возраста, как не превышающую 15% на цикл, даже при применении методов ВРТ [115]. Доля пациенток позднего репродуктивного возраста в программах ЭКО/ИКСИ занимает около половины, среди них доминируют женщины в возрасте 35-39 лет. У данной категории наблюдается резкое снижение эффективности программ ВРТ. Это следует из естественного угасания яичников [60], а также из-за роста количества некачественных яйцеклеток, анеуплоидией и снижения частоты оплодотворения [66] даже у пациенток с хорошим ответом яичников [58].

При этом морфофункциональное состояние эндометрия также влияет на факт наступления беременности, благополучное ее течение и успешное завершение. Одной из существенных причин снижения фертильности является нарушенная имплантационная функция эндометрия, обусловленная как нарушениями функции яичников, так и изменениями структуры самого эндометрия, усугубляющихся в возрасте после 35 лет.

Восстановление рецептивности эндометрия – задача гораздо более сложная, чем стимуляция функции яичников или ее гормональное замещение. Необходимо отметить, что на настоящий момент есть только отдельные публикации, посвященные трудностям ЭКО в периоде поздней фертильности [66, 45]. По этой причине изыскание новых возможностей для дальнейшей оптимизации процедур ВРТ в периоде поздней фертильности, дающих возможность минимизировать количество неуспешных попыток ЭКО, является, без сомнения, актуальным.

Осуществленный в настоящей работе ретроспективный анализ медицинских данных указывает на то, что среди отобранных в исследование пациенток позднего фертильного возраста имеет место достаточно широкий спектр возможных механизмов, нарушающих различные этапы зачатия и исхода беременности.

В ходе анализа удалось определить потенциальное влияние овариального (снижение количества и качества ооцитов) и маточного факторов, в том числе воздействие воспалительных и гормональных изменений, приводящих к цитокиновой, клеточной, молекулярной дисрегуляции эндометрия, что делает невозможными нормальные репродуктивные процессы на всех этапах. Высокая частота (87,3%) неудачных попыток ВРТ подтверждает сделанные выводы.

Анализ исходов процедур ВРТ показал, что в группе женщин от 35 лет и старше отмечалась более низкая частота наступления беременности (22% против 36,67%) по сравнению с женщинами моложе 35 лет. Это соответствует имеющимся в литературе данным о резком снижении фертильности в возрастном промежутке 35-38 лет [121, 142].

Выбранный протокол стимуляции не влиял на частоту наступления беременности ($p > 0,05$). Оценка влияния различных параметров на частоту клинической беременности по результатам ВРТ показала, что повышенный уровень прогестерона соответствует более высокой частоте наступления беременности, поскольку, как известно, прогестерон участвует в моделировании слизистой эндометрия во вторую фазу МЦ, подготавливая матку к беременности. Также не была неожиданной связь повышенной частоты состоявшейся беременности с большей толщиной функционального слоя эндометрия, что может быть следствием, в том числе, высокого уровня прогестерона. Кроме того, большее число ооцитов и качественных эмбрионов соответствовало высокой частоте беременности, которая может зависеть от качества эмбриона, а, следовательно, от его способности к активной имплантации и плацентации. Число живорождений в позднем репродуктивном возрасте составляло только 14,4% против 35,5% ($p = 0,008$) у женщин моложе 35 лет (на перенос). Ни один из выбранных протоколов стимуляции не давал преимуществ в отношении частоты живорождений.

Как показал ретроспективный анализ, у пациенток позднего репродуктивного возраста было получено значительно меньшее количество качественных ооцитов, что могло быть обусловлено накапливающимся с возрастом истощением фолликулярного резерва, ослаблением регулирования со стороны гипофиза,

имеющимися воспалительными и эндокринными нарушениями. Кроме того, снижение числа качественных ооцитов сказалось на получении меньшего числа эмбрионов отличного, хорошего и удовлетворительного качества у женщин I группы по сравнению со II-ой. Протокол стимуляции существенно не влиял на количество и качество ооцитов и эмбрионов (OR=0,96, 95% ДИ 0,96–1,9)

Проведенный анализ в ходе ретроспективного исследования установил, что в позднем репродуктивном возрасте (I группа) причиной бесплодия статистически значимо чаще являлся сочетанный этиологический фактор бесплодия, который был выявлен у 47 (52,2%) против 10 (11,1%) случаев во II группе ($p < 0,001$). Отмечено, что эндокринный фактор значимо превалировал у пациенток I группы - 52 (57,8%) против 35 (38,9%) у пациенток младше 35 лет (II группа), ($p = 0,012$). Причем во II группе среди эндокринного фактора превалировал СПЯ, тогда как у пациенток I группы чаще наблюдалось естественное снижение овариального резерва и нарушения процессов овуляции, не связанных с СПЯ.

Статистически значимых межгрупповых отличий по трубно-перитонеальному фактору не наблюдалось (I группа – 34 (37,8%) и II группа – 30 (33,3%), $p = 0,754$), хотя этот фактор имел высокую частоту встречаемости в обеих клинических группах. Отмечено также, что частота патологии маточного фактора (аденомиоз, миома матки, хронические воспалительные заболевания матки) также достоверно чаще встречались у женщин позднего репродуктивного возраста (I группа) 32 (35,6%) против 23 (25,6%) во II клинической группе ($p = 0,003$) и имели максимально выраженное межгрупповое отличие.

У пациенток позднего репродуктивного возраста продолжительность МЦ была достоверно короче, чем у женщин моложе 35 лет и составляла, соответственно, $27,2 \pm 3,4$ дня против $29,6 \pm 2,4$ дней ($p < 0,05$), что, вероятно, свидетельствует о возрастном снижении выработки прогестерона во второй фазе МЦ. Это подтверждалось наличием у пациенток старше 35 лет повышенного содержания рецепторов к прогестерону в железистом эпителии и строме эндометрия по сравнению с женщинами моложе 35 лет. Таким образом, эндометрий реагирует на недостаток прогестерона, пытаясь его компенсировать

избытком экспрессированных рецепторов.

В целом концентрация АМГ в крови женщин в позднем репродуктивном возрасте оказалась значимо снижена и составила $2,8 \pm 1,92$ нг/мл против $3,5 \pm 1,89$ нг/мл ($p=0,003$), говоря о сниженной его продукции фолликулами. Также у пациенток в позднем репродуктивном возрасте было получено достоверно меньшее количество зрелых ооцитов и качественных эмбрионов, чем в контроле ($p<0,05$), что говорит о связанном с возрастом истощении фолликулярного резерва и снижении качества эмбрионов. Отмечено, что повышенная вероятность ($OR=1,8$ 95% ДИ 1,5–2,8) беременности и родов наблюдались у женщин с достоверно большей толщиной функционального слоя эндометрия (УЗИ), повышенным количеством зрелых ооцитов и качественных эмбрионов ($p<0,05$). В итоге клиническая беременность была установлена у 22,2%, а частота живорождений у 14,4% женщин позднего репродуктивного возраста (на перенос), что составило статистически значимую разницу с результатами контрольной группы, где беременность и живорождения наблюдались в 36,6% и 35,5% случаев соответственно ($p<0,05$). Результативность циклов ВРТ была выше у пациенток с криопереносом эмбриона в обеих группах (I группа – 4 (28,5%) и II группа – 4 (40%)) по сравнению с переносом эмбриона в стимулированном цикле (22,2% и 36,7% соответственно) ($OR=2,3$ 95% ДИ 1,6–4,2). У всех пациенток с благополучными криопереносами, беременность закончилась рождением доношенного ребенка. На основании полученных данных следующая попытка ЭКО у всех пациенток в нашем исследовании была выполнена в режиме криопротокола.

Таким образом, конечный успех процедур ВРТ складывается из множества факторов, в исследовании продемонстрировано, что накопленные с возрастом гинекологическая и соматическая патологии, безусловно, влияют на способность женщины к зачатию и вынашиванию беременности. При этом нами отмечено, что в I группе у 32 (35,5%) пациенток не встречалось какой-либо соматической и гинекологической патологии, которая могла повлиять на фертильность. Очевидно, что у данной когорты пациенток имелось либо естественное снижение фертильности, либо имеется неучтенный фактор, для выявления которого

требуется более глубокое и всестороннее обследование.

В целом, ретроспективный этап исследования показал, что несмотря на безусловное влияние накопленной с возрастом гинекологической и соматической патологии на возможность реализации репродуктивной функции у женщин позднего репродуктивного возраста, неоспорим тот факт, что возраст является одной из существенных причин сложности ее реализации у данной когорты пациенток. В связи с этим нами было предпринято выборочное проспективное исследование для выяснения причин сниженной фертильности в этой возрастной группе с целью выявления патогенетических проблем, связанных исключительно с возрастом пациенток. По данной причине за период 2019–2023 г.г. были обследованы 302 женщины – 1 (основная) группа, возраст женщин в которой был не менее 35 лет, с выставленным диагнозом «бесплодие» не позднее, чем за 4 года от текущего времени, имеющие благополучный гинекологический и акушерский анамнез, ранее проходившие процедуру ЭКО с отрицательным результатом. При этом запоздалое желание иметь детей в данной группе было обусловлено одной или несколькими причинами: построение карьеры, личное нежелание иметь детей, отсутствие полового партнера, неудачный ранний брак и другие. Кроме того, был проведен отбор 50 условно здоровых женщин, находящихся в репродуктивном возрасте (25–34 года) – 2 группа (контрольная), которые наблюдались в клиниках в рамках программы суррогатного материнства.

Комплексное исследование этиопатогенетических факторов, приводящих к бесплодию в позднем репродуктивном возрасте, показало, что даже в когорте условно здоровых женщин имеются существенные дефекты функционирования всей оси нейрогуморальной регуляции репродуктивной системы, отчетливо усугубляющиеся с возрастом пациенток ($r=0,97$). Кластеризация анамнестических данных и данных, полученных при первичном обследовании пациенток в течение первой неудачной попытки ЭКО (показатели гормонального фона: ФСГ, ЛГ, эстрадиол, пролактин, прогестерон), содержание АМГ в сыворотке крови, данные УЗИ (число антральных фолликулов, толщина эндометрия в среднюю лютеиновую фазу), параметры фолликуло- и оогенеза, полученные в предыдущем цикле

стимуляции, позволили выделить в когорте обследуемых три подгруппы, различающиеся между собой по суммарному ряду признаков или факторов, объясняющих неудачную попытку ЭКО. В результате выделены 3 кластера (3 подгруппы): 1А подгруппа – 62 женщины, у которых в структуре бесплодия доминировал ооцитарный фактор бесплодия (при достаточном количестве фолликулов и полученных ооцитов, отсутствовало оплодотворение ооцитов или получались патологические формы непригодные к переносу); 1В подгруппа – 73 женщины, у которых было преобладание имплантационной несостоятельности эндометрия (без признаков «тонкого» эндометрия); 1С подгруппа – 167 женщин, у которых сочетались овариальный фактор («бедный ответ») и имплантационная несостоятельность эндометрия («тонкий эндометрий»).

Дополнительное обследование на этапе прегравидарной подготовки к последующей попытке ЭКО внутри подгрупп выявило особенности патогенетических механизмов формирования инфертильности у данных пациенток, а также определило возможные пути ее преодоления.

В результате нашего исследования выявлено, что у пациенток 1А подгруппы ведущим фактором бесплодия является ооцитарный, выражающийся в низких показателях оплодотворения и развития эмбрионов при достаточном их количестве. Учитывая наличие у этих пациенток активного ответа на стимуляцию фолликулогенеза, удовлетворительные показатели имплантационных резервов эндометрия и наличие у партнера фертильной спермы, можно предположить наличие у данных пациенток мутации генов (PATL2, TUBB8, WEE2 и PAD16), изменение экспрессии которых нарушает созревание ооцитов, снижает их способность к оплодотворению и формированию полноценных эмбрионов, а также приводит к остановке развития эмбрионов на ранних стадиях [28]. Для оптимизации тактики лечения данных пациенток может быть рекомендована преимплантационная генетическая диагностика для подтверждения подозреваемых мутаций в геноме, а далее при условии их верификации, использование донорских ооцитов или эмбрионов.

Пациентки 1В подгруппы достоверно отличались от главной когорты

обследуемых по критерию «возраст», который был минимален по сравнению с другими подгруппами и в среднем составил $36,4 \pm 3,28$ лет. При этом пациентки 1В подгруппы статистически значимо не отличались от группы контроля по параметрам фолликулярного резерва, результатам стимуляции суперовуляции, фолликуло- и оогенеза. Однако у пациенток 1В подгруппы наблюдались косвенные маркеры имплантационной несостоятельности эндометрия (толщина эндометрия в средней фолликулярной фазе составила $9,4 \pm 1,6$ мм, против $13,4 \pm 1,2$ мм в группе контроля, $p < 0,001$). Наличие снижения толщины эндометрия, хотя и не соответствующего термину «тонкий» эндометрий (< 7 мм), у данных пациенток сопровождалось симметричным высоко-резистентным маточным кровотоком, увеличением экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону и снижением экспрессии LIF как в железах, так и в строме эндометрия. Например, экспрессия ER КЖЭ составила $198,1 \pm 21,83$, а PR КЖЭ - $189,7 \pm 38,58$, против $134,1 \pm 40,47$ и $174,50 \pm 28,06$ в группе контроля соответственно ($p < 0,001$). Данные изменения сопровождалось наличием ИГХ признаков умеренно выраженного ХЭ с аутоиммунным компонентом в фазе обострения и выявлением у них бактериального и/или вирусного обсеменения эндометрия условно патогенной и патогенной микрофлорой. Результаты ИГХ и микробиологического обследования ткани эндометрия сопягались с данными, полученными из ЦС, где выявлялся провоспалительный цитокиновый сдвиг (увеличение уровня IL6 до $59,5 \pm 3,6$ пг/мл против $31,2 \pm 5,1$ пг/мл в контрольной группе, $p < 0,001$), высокий уровень кателицидина ($56,9 \pm 7,1$ пг/мл vs $32,9 \pm 3,0$ пг/мл, $p < 0,001$) и косвенно подтвержденное соотношением $TGF\beta 1/VEGF$ умеренное преобладание процессов фиброза над процессами ангиогенеза, вероятно на фоне ХЭ.

Уровень мелатонина крови у пациенток 1В подгруппы статистически значимо не отличался от результатов контрольной группы ($26,6 \pm 4,23$ пг/мл и против $28,9 \pm 5,43$ пг/мл в контроле, $p = 0,529$). Уровень мелатонина ФЖ был несколько ниже результатов группы контроля ($36,3 \pm 1,4$ пг/мл и $39,6 \pm 1,6$ пг/мл, $p = 0,005$). Данный показатель слабо коррелировал ($r = 0,23$) с умеренно проявленным дисбалансом между антиоксидантно-прооксидантной системами, отражающимся в

достоверно сниженном коэффициенте SOD/MDA по сравнению с группой контроля: $0,66 \pm 0,05$ против $0,83 \pm 0,05$ в контрольной группе ($p < 0,001$).

Однако у пациенток 1В подгруппы коэффициент SOD/MDA снижался в основном за счет уменьшения активности супероксиддисмутазы и, вероятно, в большей степени был связан с наличием хронического воспалительного процесса, чем с умеренно выраженным снижением уровня мелатонина. На основании этих данных, предполагаемой индивидуализацией лечения в данной когорте (подгруппа 1В) послужили антибактериальная и/или противовирусная терапия, противовоспалительная, антифиброзирующая и циклическая гормональная терапия, направленные на реабилитацию рецепторной чувствительности эндометрия.

В результате пациенткам 1В подгруппы назначалась прегравидарная подготовка по Схеме 1, которая на I этапе включала этиотропную терапию в зависимости от характера (вирусы, бактерии) и чувствительности инфекта. Параллельно с 5 дня лечения проводился курс низкочастотной ультразвуковой кавитации с использованием водного раствора хлоргексидина 0,05% - 10 процедур с интервалом в 1 день. Параллельно назначался курс бовгиалуронидаза азоксимера 3000 МЕ растворенного в 2 мл раствора прокаина (0,5%) в/м 1 раз в 3 дня курсом 10 инъекций. С целью восстановления рецепторного аппарата эндометрия в качестве ЦГТ назначался эстроген-гестагенный прайминг (эстрадиол-гель трансдермально 2 мг с 1-го по 25-й день МЦ и микронизированный прогестерон с 16-го по 25-й день МЦ по 400 мг ежедневно интравагинально в течение трех менструальных циклов до стимуляции), затем проводили цикл стимуляции суперовуляции.

После проведения прегравидарной подготовки у пациенток подгруппы 1В, мы зафиксировали следующие изменения: в цервикальном секрете отмечено статистически значимое снижение уровня LL37 до $34,2 \pm 5,2$ пг/мл ($p = 0,034$) и статистически значимое снижение провоспалительного индекса до $0,87 \pm 0,3$ у.е. ($p < 0,001$) практически до результатов контрольной группы ($0,86 \pm 0,02$ у.е., $p = 0,132$); статистически значимое уменьшение уровня ФСГ и ЛГ $6,9 \pm 2,6$ мМЕ/мл и $7,9 \pm 2,1$ мМЕ/мл против $7,7 \pm 2,3$ мМЕ/мл и $9,8 \pm 3,55$ мМЕ/мл исходно ($p < 0,001$) и

некоторое увеличение уровня эстрадиола и прогестерона в периферической крови. Отмечено статистически значимое снижение индекса $TGF\beta 1/VEGF-A$, который после ПГ составил $1,1\pm 0,5$ у.е. против $1,5\pm 0,7$ у.е. исходно ($p=0,036$), приблизив этот показатель к результатам контрольной группы ($p=0,231$). Эти данные имели прямую сильную корреляцию ($r=0,87$) с показателями резистентности кровотока в маточных артериях, которые статистически значимо снизились и максимально приблизились к результатам группы контроля IR (МА) $0,89\pm 0,04$ ($p=0,145$) и PI (МА) $2,5\pm 0,2$ ($p=0,213$).

На этапе стимуляции суперовуляции, проводимой в 1В подгруппе по «Схеме стимуляции 1», у пациенток не было отмечено достоверных отличий параметров фолликуло- и оогенеза, они совпадали с первичными данными, достоверно отличались от пациенток более молодого возраста, но были в пределах перспективных значений для ЭКО и привели к 100% переносу эмбрионов.

В качестве итогового результата реализации мероприятий в рамках персонифицированной системной прегравидарной подготовки, можно отметить, что доля женщин, которые сформировали 1В подгруппу и у которых наступила биохимическая беременность составила 50,7%, или 37 из 73 человек, что соответствовало средним показателям отчета РАРЧ (2022 г.) для пациенток репродуктивного возраста. Частота наступления клинической беременности на цикл и перенос составила 27 (37,0%), частота живорождения – 24 (32,9%), что также соответствовало средним показателям РАРЧ (2022 г.).

Таким образом, несмотря на имеющиеся потери в ходе цикла ЭКО и в процессе гестации, результат персонифицированной комплексной подготовки у пациенток позднего репродуктивного возраста с преимущественными нарушениями имплантационных возможностей эндометрия и неудачной попыткой ЭКО в анамнезе (1В подгруппа) можно признать удовлетворительным. В целом, полученные данные хотя и отличались от результативности контрольной группы, однако проведенная терапия, несомненно, повысила эффективность ЭКО ($\chi^2 = 8,7$, $p < 0,001$; OR=1,54 95% ДИ 1,6;3,3).

Пациентки 1С подгруппы статистически значимо отличались от остальных

по критерию «возраст», который составил $38,2 \pm 3,92$ года (старше, чем в других подгруппах). При обследовании нами были выявлены статистически значимо более заметные изменения, относительно всей когорты пациенток, параметров нейрогормональной регуляции менструально-овариального цикла (увеличение ФСГ и ЛГ, снижение уровня прогестерона и эстрадиола, а также их рецепции на уровне эндометрия). У пациенток 1С подгруппы наблюдался дефицит пинеальной и экстрапинеальной секреции мелатонина, подтверждаемый выраженным снижением уровня мелатонина в ПК ($10,6 \pm 4,15$ пг/мл против $28,9 \pm 5,43$ пг/мл в контрольной группе, $p < 0,001$) и ФЖ ($22,7 \pm 0,7$ пг/мл против $39,6 \pm 1,6$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$).

Также у пациенток 1С подгруппы отмечался наиболее выраженный оксидативный стресс ФЖ ($0,36 \pm 0,06$ у.е.) как за счёт истощения способности SOD к устранению супероксидных анион-радикалов, так и за счёт увеличения интенсивности перекисного окисления липидов, который имел сильную отрицательную корреляционную связь с уровнем мелатонина ПК и ФЖ ($r = -0,87$ и $r = -0,92$ соответственно). При расширенном исследовании имплантационного фактора эндометрия у большинства пациенток (84,4%) 1С подгруппы патогенной микрофлоры выделено не было, облигатно-анаэробные микроорганизмы выявлялись с частотой не более 10% совокупно в количестве 10^4 копий в образце, но при этом у 91,1%, несмотря на отсутствие патогенной микрофлоры в эндометрии, определялись признаки слабо выраженного аутоиммунного ХЭ. Слабая активация ХЭ отмечена лишь у 25,4% пациентов.

Также выявлено снижение экспрессии LIF в эндометрии и его уровня в ЦС и максимально выраженное повышение коэффициента $TGF\beta 1/VEGF-A$ ($2,1 \pm 0,8$ у.е. против $0,98 \pm 0,08$ у.е. в контроле, $p < 0,001$), что косвенно свидетельствует о возможном преобладании процессов фиброза над васкуляризацией, что возможно обеспечивает максимально высокорезистентный кровоток в сосудах матки у пациентов 1С подгруппы.

Таким образом, можно предположить, что одним из патогенетических моментов нарушения процессов фолликулогенеза у данных пациенток (в отличие

от других пациенток изучаемой когорты) является пинеальная и экстрапинеальная дефицитарность мелатонина, приводящая к снижению фолликулогенеза и усилению окислительного стресса в фолликулах. Это позволяет предположить, что патогенетически обоснованная коррекция пинеального дефицита у пациенток 1С подгруппы, введенная в комплекс прегравидарной подготовки, может улучшить эффективность программ ЭКО. Другим патогенетическим механизмом infertility у пациенток 1С подгруппы является сниженный имплантационный потенциал эндометрия, сопровождающийся наличием аутоиммунного воспаления в эндометрии. У данных пациенток отмечалась повышенная фиброзирующая активность в зоне эндометрия, что подтверждается активацией локальной экспрессии TGF- β 1 — ключевого профибротического цитокина и снижением экспрессии VEGF-A, обеспечивающего адекватную васкуляризацию тканей.

На основании этих данных, индивидуализацией лечения у пациенток 1С подгруппы стала, в первую очередь, коррекция мелатониновой недостаточности с использованием препарата полипептидов эпифиза крупного рогатого скота, стимулирующих эндогенную выработку мелатонина, а также использование лечебных мероприятий, корректирующих взаимоотношения между TGF β 1/VEGF-A. С этой целью применялся бовгиалуронидаза азоксимер. В качестве ЦГТ применялся эстроген-гестагенный прайминг.

С целью проверки гипотезы о позитивном влиянии коррекции пинеальной недостаточности на репродуктивный потенциал и исходы ЭКО у пациенток 1С подгруппы, они методом простой рандомизации были разделены на две подгруппы (1С1 и 1С2). Пациенткам 1С1 подгруппы проводилась стандартная ЦГТ. У пациенток 1С2 подгруппы дополнительно к стандартной ЦГТ во втором менструальном цикле с целью коррекции пинеальной недостаточности применялось внутримышечное введение низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций эпифиза, ежедневно в дозе 10 мг в течение 10 дней с 5 по 15 день менструального цикла, предшествующего стимуляционному.

Применение комплекса водорастворимых полипептидных фракций эпифиза

у пациенток 1С2 подгруппы привело к шестикратному увеличению уровня мелатонина ПК и двукратному увеличению мелатонина в ФЖ. Полученные после проведения ПГ средние уровни мелатонина сохраняли статистически значимые отличия от результатов контрольной группы ($p < 0,001$ для всех показателей), однако максимально приблизились к ним. При этом при применении только стандартной ЦГТ у пациенток 1С1 подгруппы отмечалось повышение мелатонина в 2,3 раза. Прегравидарная подготовка с включением в комплекс терапии эпифизарных гормонов, стимулирующих выработку мелатонина, привела к статистически значимому увеличению антиоксидантной активности ФЖ. Коэффициент SOD/MDA составил 0,68 [7,3;7,8] у.е. против 0,37 [0,34;0,41] у.е. исходно ($p < 0,001$). Изменение антиоксидантной активности наблюдалось за счет равнозначного статистически достоверного увеличения уровня SOD (42,7 [51,2;56,4] мМЕ/мг против 32,4 [30,6;34,1] мМЕ/мг исходно, $p < 0,001$) и уменьшения концентрации MDA (0,62 [0,67;0,83] μM против 0,89 [0,85;0,93] μM исходно, $p < 0,001$). Так как данные изменения имели сильно выраженную положительную корреляционную взаимосвязь с повышением уровня мелатонина ФЖ (r (мелатонин ФЖ/коэффициент SOD/MDA)=0,87), а также учитывая известные антиоксидантные эффекты мелатонина [176], можно предположить, что именно мелатониновый прайминг привел к столь активному усилению антиоксидантной активности ФЖ. В итоге применения в составе комплексной терапии полипептидных фракций эпифиза отмечена нормализация показателей гипоталамо-гипофизарной оси регуляции менструально-овариального цикла со снижением уровней ФСГ и ЛГ в 1,5 раза и активацией фолликулогенеза. В итоге сравнительный анализ результатов стандартной и расширенной прегравидарной подготовки (1С2 подгруппа (схема 3)) показал статистически значимое изменение всех параметров стимулированного цикла в условиях коррекции пинеального дефицита препаратами эпифиза, стимулирующими выработку эндогенного мелатонина. Общее количество фолликулов у пациенток 1С2 подгруппы увеличилось в 2,4 раза, аспирировано в 3 раза большее количество ($p < 0,001$) ооцитов, из которых 84,2% находились во второй стадии мейоза. После проведения

процедуры оплодотворения среднее число нормально оплодотворившихся ооцитов в 1С2 подгруппе более чем в 4 раза превышало сходный параметр у пациентов подгруппой 1С1 ($p < 0,001$, $OR = 4,1(2,3-5,3)$). Статистически значимо увеличилось количество среднего числа бластоцист отличного/хорошего качества – $0,7 \pm 0,2$ против $0,3 \pm 0,2$ в 1С1 подгруппе ($p < 0,001$). Конечно, эти показатели достоверно отличались от данных контрольной группы (2 группа), однако отмечалась максимально высокая результативность по сравнению с 1С1 подгруппой.

Таким образом, установлено, что при проведении прегравидарной подготовки препаратами, увеличивающими синтез экзогенного мелатонина по сравнению со стандартной ЦГТ, вероятность переноса эмбрионов возрастает в 3 раза $OR = 3,1$ 95% ДИ (1,5–5,8). Вероятность наступления биохимической беременности в расчете на начатый цикл увеличивается в 2,7 раза ($OR = 2,7$ 95% ДИ (1,3–5,6)), на перенос эмбрионов в 1,7 раза ($OR = 1,7$ 95% ДИ (1,3–3,8)). Вероятность наступления клинической беременности на начатый цикл возросла почти в три раза ($OR = 2,8$ 95% ДИ (1,3–5,9)), а на перенос эмбрионов – в 1,8 раза ($OR = 1,8$ 95% ДИ (1,3–5,9)). В итоге, вероятность живорождения в расчете на начатый цикл у пациенток 1С2 подгруппы, увеличилась практически в 3 раза ($OR = 2,9$ 95% ДИ (1,3–6,3)). Более высокая вероятность позитивного результата ЭКО в расчете на начатый цикл доказывает, что именно эпифизарные препараты, корректирующие уровень мелатонина в ПК, способствуют коррекции функционирования гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси, регуляции репродукции и способствуют улучшению этапа фолликулогенеза у пациенток позднего репродуктивного возраста с выраженным пинеальным дефицитом. Увеличение уровня мелатонина в ФЖ, вероятно за счет предотвращения возрастного оксидативного повреждения ооцитов, снижает частоту апоптоза бластоцист и улучшает развитие эмбрионов.

Одновременно у женщин обеих подгрупп (1С1 и 1С2), на фоне усиленной противофиброзирующей и противовоспалительной терапии, выявили статистически значимое снижение уровня кателицидина и ПВИ (IL6/ IL10) ($p < 0,001$ и $p = 0,034$ соответственно) до результатов контрольной группы (2 группа), статистически значимое снижение индекса $TGF\beta 1/VEGF-A$ ($p < 0,001$) и маркера

имплантации LIF($p < 0,001$). За счет этих изменений происходит улучшение имплантационных свойств эндометрия, что объясняет меньшую разницу вероятностей наступления биохимической, клинической беременности и живорождения в расчете на перенос эмбриона по сравнению с расчетом на цикл ($\chi^2 = 8,3$, $p < 0,001$; OR=2,02 95 % ДИ 1,6;4,1).

В целом, персонифицированная, патогенетически обоснованная коррекция как овариального, так и имплантационного факторов бесплодия у пациенток в позднем репродуктивном возрасте, позволяет повысить эффективность лечения, увеличивая результативность ЭКО. Так индивидуализированная прегравидарная подготовка к циклам ЭКО в группе пациенток с преобладанием имплантационной несостоятельности эндометрия (без признаков «тонкого» эндометрия) повысила результативность ЭКО по критерию «биохимическая беременность» (на цикл и перенос) в 1,8 раза ($p < 0,001$, OR=2,8 95% ДИ 1,3–5,9) и составила 36,9% (на цикл и перенос) по критерию «клиническая беременность» и 32,9% (на цикл и перенос) по критерию «живорождение».

У пациенток с сочетанием овариального фактора («бедный ответ») и имплантационной несостоятельности эндометрия («тонкий» эндометрий) индивидуализированная ПГ привела к увеличению количества перенесенных эмбрионов в 2,4 раза ($p < 0,001$, OR=3,1 95% ДИ (1,4–3,4)), «биохимической беременности» в 7,5 раза ($p < 0,001$, OR=6,3 95% ДИ (1,5–4,5)) и эффективности ЭКО по критерию «клиническая беременность» до 28,5% (на цикл) и до 27,3% на цикл по критерию «живорождение».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, пациенткам позднего репродуктивного возраста с неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения в анамнезе требуется персонифицированная прегравидарная подготовка к следующему циклу ЭКО с учетом ведущего патогенетического фактора, в том числе с использованием полипептидов эпифиза, и использование криопротокола.

Проведенное исследование позволяет сделать следующие **Выводы**

1. По данным ретроспективного анализа, у пациенток позднего репродуктивного возраста результативность процедур ЭКО статистически значимо снижена и составляет по критерию «клиническая беременность» на цикл – 22,2% и по критерию «живорождение» - 14,4% по сравнению с женщинами репродуктивного возраста (36,6% и 35,5% соответственно ($p < 0,001$)), что связано с уменьшением фолликулярного резерва, количества зрелых ооцитов, качественных эмбрионов и неполноценностью имплантационного фактора эндометрия, при этом 24,4% пациенток не имели отягощенного соматического, гинекологического и акушерского анамнеза. Наиболее высокая результативность наблюдается при проведении криопротокола ($\chi^2 = 10,2$, $p < 0,001$; OR 1,52 95% ДИ 1,4;3,5).

2. В позднем репродуктивном возрасте в когорте условно здоровых женщин нарушение фертильности и отрицательные попытки ЭКО определяются тремя основными патогенетическими вариантами: доминированием ооцитарного фактора бесплодия (достаточное количество полученных яйцеклеток и отсутствие нормально оплодотворившихся ооцитов); преобладанием имплантационной несостоятельности эндометрия (без признаков «тонкого» эндометрия) и сочетанием овариального фактора («бедный ответ») и имплантационной несостоятельности эндометрия («тонкий эндометрий»).

3. Наличие преобладающей имплантационной несостоятельности эндометрия (без признаков «тонкого» эндометрия) сопровождается

иммуногистохимическими признаками умеренно выраженного хронического эндометрита с бактериальным и/или вирусным обсеменением эндометрия патогенной и/или условно-патогенной микрофлорой, статистически значимым повышением уровня кателицидина (56,7 [51,8;63,6] пг/мл, $p < 0,001$ относительно других подгрупп) с выраженным увеличением ПВИ (1,7 [1,5;1,8] у.е.), умеренным уменьшением экспрессии LIF (28,2 [26,2;28,7] пг/мл) и умеренным увеличением соотношения $TGF\beta 1/VEGF$ (1,8 [1,5;1,8] у.е., $p < 0,001$).

4. Наличие «тонкого» эндометрия у пациенток позднего репродуктивного возраста в отсутствие бактериальной обсемененности, помимо гормональных дисфункций, соотносится со слабо выраженным аутоиммунным хроническим эндометритом с максимальным повышением фиброзирующей активности и обеднением ангиогенеза ($TGF\beta 1/VEGF$ 2,1 [2,1;2,4] у.е., $p < 0,001$) и максимальным снижением имплантационного фактора (LIF (22,6 [22,1;26,2] пг/мл, $p < 0,001$).

5. У пациенток с сочетанием овариального фактора («бедный ответ») и имплантационной несостоятельности эндометрия («тонкий» эндометрий) наблюдается статистически значимо сниженный уровень мелатонина периферической крови ($10,6 \pm 4,15$ пг/мл, $p < 0,001$ относительно других подгрупп), что способствует формированию наиболее выраженных изменений всех параметров нейрогормональной регуляции менструального цикла (увеличение ФСГ и ЛГ, снижение уровня прогестерона и эстрадиола), а также сниженный уровень мелатонина фолликулярной жидкости (более чем в 1,5 раза), что опосредовано влияет на увеличение оксидативного стресса в фолликулах ($r = -0,9$).

6. Включение в прегравидарную подготовку у пациенток со сниженным уровнем мелатонина комплекса водорастворимых полипептидных фракций эпифиза, стимулирующих выработку пинеального и экстрапинеального мелатонина, повышает показатели фолликулогенеза в 2,4 раза ($\chi^2 = 13,3$, $p < 0,001$; OR 1,12 95% ДИ 1,4;2,5), эмбриогенеза в 2,9 раза ($\chi^2 = 9,3$, $p < 0,001$; OR 1,34 95% ДИ 1,2;3,1), и опосредовано положительно влияет на имплантационные свойства эндометрия (увеличение толщины эндометрия в 2,2 раза ($\chi^2 = 5,8$, $p < 0,001$; OR 1,22 95% ДИ 1,3;2,9), и LIF ЦС в 1,5 раза ($\chi^2 = 8,5$, $p < 0,001$; OR 1,6 95% ДИ 1,6;3,1));

7. Комплексная индивидуализированная прегравидарная подготовка к циклам ЭКО с учетом выявления и коррекции ведущих патогенетических вариантов и применение криопереноса, позволяет повысить эффективность ВРТ у пациенток позднего репродуктивного возраста с неудачной попыткой ЭКО в анамнезе: в подгруппе с преобладанием имплантационной несостоятельности эндометрия (без признаков «тонкого» эндометрия) - по критерию «биохимическая беременность» (на цикл) – в 1,8 раза ($p < 0,001$, OR=2,8 95% ДИ 1,3–5,9), составив 36,9% (на цикл) по критерию «клиническая беременность» и 32,9% (на цикл) по критерию «живорождение»; в группе с сочетанием овариального фактора («бедный ответ») и имплантационной несостоятельности эндометрия («тонкий» эндометрий) - увеличение количества перенесенных эмбрионов в 2,4 раза ($p < 0,001$, OR=3,1 95% ДИ 1,4–3,4), «биохимической беременности» - в 7,5 раза ($p < 0,001$, OR=6,3 95% ДИ 1,5–4,5) и эффективности ЭКО по критерию «клиническая беременность» до 28,5% (на цикл) и по критерию «живорождение» до 27,3% (на цикл).

Практические рекомендации

Пациенткам позднего репродуктивного возраста при достаточном количестве полученных яйцеклеток и отсутствии нормально оплодотворившихся ооцитов при наличии фертильной спермы партнера рекомендуется мультигенное таргетное секвенирование, направленное на обнаружение известного набора диагностически значимых генов обеспечивающих низкое качество ооцитов (PATL2, TUBB8, WEE2 и PAD16) для выявления возможных мутаций и использование донорских ооцитов или эмбрионов.

На этапе подготовки к циклу ЭКО у пациенток позднего репродуктивного возраста, помимо стандартного обследования, рекомендованного приказом №803 от 31 июля 2020 г. «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению», целесообразно иммуногистохимическое исследование пайпель-биоптата и микробиологическое исследование эндометрия.

Пациенткам позднего репродуктивного возраста с неудачной попыткой ЭКО в анамнезе, целесообразно проводить криоперенос на фоне циклической гормональной терапии.

При преобладании имплантационной несостоятельности эндометрия (с отсутствием признака «тонкий» эндометрий) проводить прегравидарную подготовку, включающую:

– на 1 этапе – этиотропную терапию с учетом выявленных инфектов (антибиотики, анаэробные средства и/или противовирусные препараты), параллельно с 5 дня лечения - низкочастотную ультразвуковую кавитацию с 0,05% водным раствором хлоргексидина - 10 процедур через день, одновременно – бовгиалуронидаза азоксимер 3000 МЕ, растворенный в 2 мл 0,5% раствора прокаина в/м 1 раз в 3 дня – 10 инъекций подкожно;

– на 2 этапе - эстроген-гестагенный прайминг (эстрадиол-гель трансдермально 2 мг с 1-го по 25-й день МЦ и микронизированный прогестерон с 16-го по 25-й день МЦ 400 мг ежедневно интравагинально в течение 3 циклов до

цикла стимуляции).

– При сочетании овариального фактора («бедный ответ») и имплантационной несостоятельности эндометрия («тонкий» эндометрий) использовать прегравидарную подготовку, включающую применение низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций эпифиза:

– на 1 этапе – в случае обнаружения патогенной микрофлоры в эндометрии этиотропная терапия и с 5 дня лечения - низкочастотная ультразвуковая кавитацию с использованием 0,05% водного раствора хлоргексидина - 10 процедур через день.; вне зависимости от наличия патогенной микрофлоры в эндометрии – бовгиалуронидаза азоксимер 3000 МЕ растворенный в 2 мл раствора прокаина (0,5%) в/м 1 раз в 3 дня курсом 10 инъекций с переходом на интравагинальное введение по 1 суппозиторию 3000 МЕ через 2 дня – 10 введений;

– на 2 этапе – эстроген-гестагенный прайминг (эстрадиол-гель трансдермально 2 мг с 1-го по 25-й день МЦ и микронизированный прогестерон с 16-го по 25-й день МЦ по 400 мг ежедневно интравагинально в течение 3 циклов до цикла стимуляции; внутримышечное введение низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций эпифиза, стимулирующих выработку эндогенного мелатонина ежедневно в дозе 10 мг в течение 10 дней с 5 по 15 день менструального цикла, предшествующего стимуляционному.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Полученные результаты являются основой для более детального изучения особенностей синтеза и метаболизма пинеального и экстрапинеального мелатонина, его влияния на становление, функционирование и угасание женской репродуктивной системы, антиоксидантных и иммуностропных свойств. Перспективным является изучение возможности применения стимуляторов выработки эндогенного мелатонина для коррекции нарушений менструального цикла и infertility при синдроме поликистозных яичников и преждевременной недостаточности яичников.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АМГ – антимюллеров гормон
- АМК – метаболит мелатонина, N1-Acetyl-5-methoxykynuramine
- АФК – активные формы кислорода
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ГнРГ – гонадотропный рилизинг гормон
- ЦГТ – циклическая гормонотерапия
- ИГХ – иммуногистохимия
- КАФ – количество антральных фолликулов
- КЖЭ – клетки железистого эпителия
- КС – клетки стромы
- ЛГ – лютеинизирующий гормон
- МДФ (MDA) – малоновый диальдегид
- МЕ – международные единицы
- МЦ – менструальный цикл
- ОБМ –общая бактериальная масса
- ОР – отношение рисков
- ОШ – отношение шансов
- ПВИ – противовоспалительный индекс
- ПГТ (PGT) – преимплантационное генетическое тестирование
- ПГ –прегравидарная подготовка
- ПК – периферическая кровь
- СОД (SOD) – супероксиддисмутаза
- СПЯ – синдром поликистозных яичников
- ТВП – трансвагинальная пункция фолликулов
- ФЖ – фолликулярная жидкость
- ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
- ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
- ХЭ – хронический эндометрит

ЦС – цервикальная слизь

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

IVM – invitromaturation, созревание в пробирке

PRP – plateletrich plasma (обогащенная тромбоцитами плазма)

VEGF – vascularen dothelial growth factor (фактор роста эндотелия сосудов)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрова, О. Ю. Стандартизированные подходы к организации медицинской помощи по сохранению репродуктивного потенциала женщин позднего репродуктивного возраста и оценка их эффективности / О. Ю. Александрова, Л. С. Полонская // Проблемы стандартизации в здравоохранении. – 2022. – Т. 3-4. – С. 29-36. – DOI: 10.26347/1607-2502202203-04029-035.
2. Алпатов, А. В. Трансформация возрастной модели рождаемости в Волгоградской области / А. В. Алпатов, И. В. Митрофанова // Мониторинг общественного мнения: экономические и социальные перемены. – 2023. – № 6. – С. 95-117. – URL: <https://doi.org/10.14515/monitoring.2023.6.2424> (дата обращения: 23.12.2023).
3. Анализ состояния здоровья детей, рожденных после экстракорпорального оплодотворения / Н. П. Проватар, В. Н. Кузьмин, Е. И. Каширская, Н. Р. Пименова // Лечащий врач. – 2022. – Т. 25 (5-6). – С. 54-56. – DOI: 10.51793/OS.2022.25.6.009.
4. Андреева, Е. Н. Мелатониновый статус у пациенток с ожирением и дисфункцией яичников в репродуктивном возрасте / Е. Н. Андреева, О. Р. Григорян, Ю. С. Абсатарова // Проблемы эндокринологии. – 2022. – Т. 68 (1). – С. 94-100. – URL: <https://doi.org/10.14341/probl12849> (дата обращения: 12.03.2022).
5. Андреева, Е. Н. Терапевтические возможности в коррекции вегетативных нарушений и ановуляции при преждевременной недостаточности яичников / Е. Н. Андреева, Ю. С. Абсатарова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2019. – Т. 19 (5). – С. 61-67.
6. Ахмеджанова, Х. З. Дифференцированный подход к восстановлению фертильности у женщин позднего репродуктивного возраста с низким овариальным резервом / Х. З. Ахмеджанова, Ф. И. Шукуров, М. О. Абдиева // Сборник материалов республиканской научно-практической конференции

- с международным участием «Современные тренды в охране материнства и детства» (2023 г., г. Астана). – Астана : Медицинский университет Астаны, 2023. – С. 29-32.
7. Ахметова, Д. Б. Связь между женской репродуктивной и эндокринной системами / Д. Б. Ахметова, Г. М. Солимирзаева, Д. М. Хаширбаева // *Klinikva profilaktik tib biyot jurnali*. – 2023. – № 2. – С. 102-106.
 8. Байбарина, Г. В. Иммуногистохимическое исследование рецептивности эндометрия у пациенток программ ЭКО / Г. В. Байбарина, Т. А. Назаренко, В. Л. Гордеева // *Материалы XXVI Международной конференции Российской Ассоциации Репродукции Человека (7-10 сентября 2016 г., г. Москва)*. – Москва, 2016. – 214 с.
 9. Бахмацкая, М. С. Значение иммуногистохимического исследования при патологии эндометрия у пациенток с неудачами в программах вспомогательных репродуктивных технологий / М. С. Бахмацкая // *Сборник тезисов XII Международной (XXI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых*. – Москва, 2017. – С. 24- 25.
 10. Башмакова, Н. В. Реальная клиническая практика лечения бесплодия в России: мнение 425 врачей-репродуктологов / Н. В. Башмакова, Е. Н. Новоселова, Т. А. Назаренко // *Акушерство, гинекология и репродукция*. – 2023. – Т. 17 (6). – С. 680-706. – URL: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.468> (дата обращения: 15.01.24).
 11. Баштанова, А. А. Влияние активных форм кислорода на канцерогенез / А. А. Баштанова // *Научное обозрение. Педагогические науки*. – 2019. – № 5 (3). – С. 23-26.
 12. Брагина, Т. В. Воспалительные заболевания органов малого таза как одна из причин женского бесплодия / Т. В. Брагина, Ю. А. Петров, Н. В. Палиева // *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. – 2021. – Т. 23, № 12. – С. 77-84.

13. Буданова, М. А. Оценка причин снижения овариального резерва у женщин репродуктивного возраста / М. А. Буданова // Клиническая медицина. Серия: Естественные и технические науки. – 2021. – № 9. – С. 94-102. – DOI: 10.37882/2223-2966.2021.09.05.
14. Бурова, Н. А. Новый терапевтический подход в лечении преждевременной недостаточности яичников у женщин репродуктивного возраста с воспалительными заболеваниями органов малого таза / Н. А. Бурова, Т. А. Селезнева, О. В. Аболонина // Русский медицинский журнал (РМЖ). Мать и дитя. – 2019. – Т. 2 (1). – С. 10-15. – DOI: 10.32364/2618-8430-2019-2-1-10-15.
15. Бушмелева, Н. Н. Этиопатогенетический аспект ранних репродуктивных потерь при совершенствовании организации медицинской помощи женщинам : аналитический обзор / Н. Н. Бушмелева, Ю. Н. Вахрушева // Социальные аспекты здоровья населения. – 2020. – Т. 66 (5). – С. 1-31.
16. Васильева, А. С. Значение определения уровня фолликулярного мелатонина в прогнозировании исхода программ вспомогательных репродуктивных технологий при ановуляторном бесплодии / А. С. Васильева, М. И. Базина, С. А. Сыромятникова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2022. – Т. 22 (2). – С. 32-39.
17. Возможности реализации репродуктивной функции у пациенток позднего репродуктивного возраста со сниженным резервом / Е. А. Лузина, М. З. Берулава, М. П. Клименко, И. А. Коноваленко // VolgaMedScience : сборник тезисов VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием (17–18 марта 2022 г., г. Нижний Новгород). – Нижний Новгород : ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2022. – С. 254-255.
18. Гоголева, М. Н. Экстракорпоральное оплодотворение как компонент базовой программы обязательного медицинского страхования / М. Н. Гоголева, С. Д. Подберезин, М. В. Шаталова // Здоровье населения и качество жизни : электронный сборник материалов X Всероссийской с международным

- участием научно-практической конференции (30 марта 2013 г., г. Санкт-Петербург). – Санкт-Петербург : ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова Минздрава России, 2023. – С. 148-155.
19. Дмитриева, М. Л. Прогнозирование «бедного ответа» в программах вспомогательных репродуктивных технологий после оперативных вмешательств на яичниках / М. Л. Дмитриева, И. А. Петров, О. А. Тихоновская // Бюллетень сибирской медицины. – 2023. – Т. 22 (4). – С. 31-38. – URL: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-4-31-38> (дата обращения: 15.01.24).
 20. Енгибарян, А. А. Патогенетические аспекты бесплодия при гиперпролактинемии / А. А. Енгибарян, Ю. А. Петров, Н. В. Палиева // Главный врач Юга России. – 2021. – № 5 (80). – С. 23-26.
 21. Ерашов, П. А. Обогащенная тромбоцитами плазма (PRP). Ее классификация, получение и использование в медицине на современном этапе : обзор / П. А. Ерашов, В. Л. Денисенко // Вестник ВГМУ. – 2022. – № 6. – С. 18-27.
 22. Забродина, Ю. В. Влияние толщины эндометрия на исход программ вспомогательных репродуктивных технологий : обзор литературы / Ю. В. Забродина, Г. У. Ахмедьянова, З. Г. Хамидуллина // Наука и здравоохранение. – 2023. – Т. 25. – С. 223-231.
 23. Иксанова, А. М. Антимикробные пептиды и белки в биожидкостях человека / А. М. Иксанова, В. Г. Арзуманян, С. Ю. Конаныхина // *Microbiology Independent Research journal*. – 2022. – Т. 1 (1). – С. 37-55. – DOI:10.18527/2500-2236-2022-9-1-37-55.
 24. Ильина, Е. О. Эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток позднего репродуктивного возраста / Е.О. Ильина // Сборник тезисов XII Международной (XXI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (2017 г., г. Москва). – Москва, 2017. – С. 19-20.

25. Иммунологические и иммуногистохимические особенности имплантационного фактора эндометрия у здоровых пациенток позднего репродуктивного возраста / Е. И. Кравцова, Н. В. Колесникова, И. Н. Лукошкина, К. В. Урюпина // Вестник Российского Университета Дружбы народов. Серия: Медицина. Тема номера: Гинекология. – 2023. – Т. 27, № 1. – С. 46-56.
26. Калинина, Н. В. Тенденция трансформации материнской культуры в России / Н. В. Калинин // Глобальные социальные процессы 4.0 : материалы Четвертой социологической конференции молодых ученых : сборник статей. – Санкт-Петербург, 2023. – С. 439-446.
27. Касян, В. Н. Гонадотропинингибирующий гормон – ключевое звено регуляции репродуктивной системы у женщин: функции и механизм действия, регуляция биосинтеза, клинические перспективы : обзор литературы / В. Н. Касян, Л. В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2017. – Т. 23 (2). – С. 8-13. – URL: <https://doi.org/10.17116/repro20172328-13> (дата обращения: 22.05.2017).
28. Киракосян, Е. В. Значение ооцитарного фактора развития бесплодия неясного генеза / Е. В. Киракосян, А. Н. Екимов, С. В. Павлович // Акушерство и гинекология. – 2022. – Т. 1. – С. 14-21. – URL: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.1.14-21> (дата обращения: 22.01.22).
29. Кишенин, П. А. Региональная дифференциация рождаемости в Российской Федерации: оптика реальных поколений / П. А. Кишенин // Демографическое обозрение. – 2023. – Т. 10 (4). – С. 86-120. – DOI: <https://doi.org/10.17323/demreview.v10i4.18810>.
30. Клинический протокол Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины (МАРС). Версия 2.0 / коллектив авторов. – Москва : Редакция журнала Status Praesens, 2020. – 128 с.
31. Клиническое значение влияния факторов риска на возникновение различных форм бесплодия и результаты / Л. Р. Госс, Т. В. Кунакбаева, С. П. Курбатова [и др.] // Актуальные вопросы современной медицинской науки и

- здравоохранения : сборник статей IX Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов (17-18 апреля 2024 г., г. Екатеринбург). – Екатеринбург, 2024. – Т. 1. – С. 23-27.
32. Ковенко, С. А. Сравнительный анализ эффективности переноса эмбрионов в цикле индукции суперовуляции и криоцикле у пациенток различных возрастных групп / С. А. Ковенко, Т. Г. Хряпенкова, К. В. Кириенко // Проблемы репродукции. – 2016. – Т. 22 (1). – С. 50-54.
33. Королькова, А. И. Антимюллеров гормон как показатель фертильности женщин позднего репродуктивного возраста / А. И. Королькова, А. И. Мишиева, Н. Г. Абубакиров // Problemy Reproduktsii. – 2018. – Т. 24, №. 2. – С. 23-27.
34. Кравцова, О. А. Факторы риска развития синдрома гиперстимуляции яичников у женщин старшего репродуктивного возраста в протоколах ЭКО / О. А. Кравцова // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. – 2017. – №. 5. – С. 55-61.
35. Краснопольская, К. В. Использование различных методов биопсии эмбриона для преимплантационного генетического тестирования (обзор литературы) / К. В. Краснопольская, Н. И. Сесина, Е. Ю. Воскобоева // Проблемы репродукции. – 2019. – Т. 25 (6). – С. 44-50.
36. Краснопольская, К. В. Преодоление бесплодия в старшем репродуктивном возрасте / К. В. Краснопольская, С. А. Дьяконов, В. С. Москвичёва // StatusPraesens. Гинекология. Акушерство. Бесплодный брак. – 2021. – № 4 (79). – С. 79-85.
37. Кузнецова, И. В. Проблема тонкого эндометрия и возможные пути ее решения / И. В. Кузнецова, Н. С. Землина, Т. Н. Рашидов // Эффективная фармакотерапия. – 2015. – №. 5. – С. 42-49.
38. Кулешова, Д. А. «Короткие» схемы овариальной стимуляции в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) у женщин старше 40 лет / Д. А. Кулешова, Н. Ю. Мелехова, Т. А. Густоварова // Вестник

- Смоленской государственной медицинской академии. – 2017. – № 2. – С. 88-92.
39. Логутова, Л. С. Генетические особенности пациенток с бесплодием неясного генеза / Л. С. Логутова, К. В. Краснопольская, Е. Ю. Воскобоева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2023. – Т. 23 (5). – С. 19-24. – URL: <https://doi.org/10.17116/rosakush20232305119> (дата обращения: 25.09.23).
40. Лунёва, И. С. Факторы, влияющие на рождаемость в современной России / И. С. Лунёва, О. Ю. Иванова, А. В. Хардигов // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2019. – Т. 19 (2). – С. 14-20.
41. Мамедова, Т. Р. Акушерские и неонатальные исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий с использованием ооцитов донора / Т. Р. Мамедова, А. Г. Сыркашева, Н. В. Долгушина // Акушерство и гинекология. – 2020. – Т. 4. – С. 31-36. – URL: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.4.31-36> (дата обращения: 23.10.21).
42. Матвеева, Л. В. Иммунологическое прогнозирование эффективности вспомогательных репродуктивных технологий / Л. В. Матвеева, Г. В. Фоминова, Е. В. Громова // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2023. – Т. 27 (3). – С. 345-353.
43. Матюшкина, Л. С. Сравнительный анализ течения беременности и исхода родов у женщин раннего и позднего репродуктивного возраста / Л. С. Матюшкина, М. И. Мурадов, М. А. Кривобок // Международный научно-исследовательский журнал. – 2024. – № 2 (140). – С. 1-17.
44. Машина, М. А. Оптимизация специализированной медицинской помощи бесплодной паре : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 14.02.03 / Машина Мария Андреевна. – Москва, 2015. – 26 с.
45. Мягких, И. И. Персонализированный подход в лечении бесплодия у женщин позднего репродуктивного возраста со сниженным овариальным резервом и неудачным исходом предыдущих программ ЭКО и ПЭ в анамнезе / И. И.

- Мягких // Медико-социальные проблемы семьи. – 2022. – Т. 27, № 1. – С. 1-8.
46. Нарушение сексуального поведения у женщин с бесплодием в программе экстракорпорального оплодотворения при аффективных нарушениях / Ж. Р. Гарданова, М. А. Некрасова, Т. Н. Разуваева // *Psychology. Historical-critical Reviews and Current Researches*. – 2023. – Vol. 12, Is. 1A. – P. 200-208. – DOI: 10.34670/AR.2023.39.24.020.
47. Оразов, М. Р. «Проблемный» эндометрий как фактор бесплодия: поиск путей преодоления продолжается / М. Р. Оразов, К. В. Краснопольская, Е. С. Силантьева // *Трудный пациент*. – 2020. – Т. 18, № 8-9. – С. 13-19.
48. Особенности регуляции роста фолликулов в программах ВРТ у женщин с «бедным ответом» / Э. Р. Джалилова, Н. В. Башмакова, Г. Н. Чистякова, И. А. Газиева // *Мать и Дитя в Кузбассе*. – 2024. – № 1 (96). – С. 45-50. DOI: 10.24412/2686-7338-2024-1-45-50.
49. Особенности цитокинового баланса фолликулярной жидкости у пациенток старшего репродуктивного возраста / К. В. Урюпина, И. И. Куценко, Е. И. Кравцова, А. Г. Кокарева // *Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству : сборник тезисов IV Общероссийской конференции с международным участием (8-10 февраля 2018 г., г. Санкт-Петербург) – Москва : Медиабюро Статус Презенс, 2018. – С. 76.*
50. Перминова, С. Г. Современные подходы к диагностике и ведению пациенток с «бедным» ответом на гондотропную овариальную стимуляцию в программах вспомогательных репродуктивных технологий / С. Г. Перминова, И. С. Белова, Е. В. Митюрин // *Акушерство и гинекология*. – 2022. – № 8. – С. 12-21. – URL: <https://dx.doi.org/10.18565/aig> (дата обращения: 06.03.23).
51. Песчанникова, Е. А. Обзор основных патофизиологических механизмов старения организма / Е. А. Песчанникова // *Молодой ученый*. – 2023. – № 23 (470). – С. 179-182.

52. Петросян, Я. А. Дифференцированный подход к ведению эмбриологического этапа у пациенток в программах вспомогательных репродуктивных технологий с переносом размороженного эмбриона / Я. А. Петросян, А. Г. Сыркашева, А. Ю. Романов // *Акушерство и гинекология*. – 2020. – Т. 11. – С. 107-113. – URL: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.107-113> (дата обращения: 03.06.21).
53. Преодоление бедного овариального ответа в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток позднего репродуктивного возраста / К. В. Урюпина, И. И. Куценко, Е. И. Кравцова [и др.] // *Медицинский вестник Юга России*. – 2024. – Т. 15 (1). – С. 98-107.
54. Радзинский, В. Е. Рецептивность эндометрия пациенток с повторными неудачами имплантации / В. Е. Радзинский, Л. М. Михалёва, М. Р. Оразов // *Доктор.Ру*. – 2022. – Т. 21 (1). – С. 27-33.
55. Рахметова, М. Р. Особенности диагностики и лечения эндокринного бесплодия / М. Р. Рахметова, М. М. К. Алимова, К. Т. О. Ережепбаев // *Academic research in education sciences*. – 2022. – Т. 3, № 4. – С. 722-728. – DOI: 10.24412/2181-1385-2022-4-722-728.
56. Результативность ЭКО у пациенток позднего репродуктивного возраста / К. В. Урюпина, И. И. Куценко, Е. И. Кравцова, Е. И. Соколова // XIX Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и Дитя – 2018» и VI Съезд акушеров-гинекологов России : материалы форума (26-28 сентября 2018 г., г. Москва). – Москва : МЕДИ Экспо, 2-18. – С. 116.
57. Рецепторный потенциал эндометрия у женщин позднего репродуктивного возраста / К. В. Урюпина, И. И. Куценко, И. Н. Лукошкина, Е. И. Кравцова // *Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии : тезисы XI Общероссийского научно-практического семинара (8-11 сентября 2018 г., г. Сочи)*. – Москва : Медиабюро Статус Презенс, 2018. – С. 65.
58. Российская Ассоциация Репродукции Человека РАРЧ : сайт. – URL: www.rahr.ru/index.php (дата обращения: 25.12.2022).

59. Рудакова, Е. Б. Возможности улучшения результативности ЭКО и ПЭ у пациенток старшего репродуктивного возраста / Е. Б. Рудакова, Е. А. Федорова, И. В. Сергеева // Лечащий врач. – 2017. – №. 12. – С. 11-16.
60. Рыбина, А. Н. Современные аспекты вспомогательных репродуктивных технологий в мире и Казахстане / А. Н. Рыбина, С. Ш. Исенова, В. Н. Локшин // Клиническая медицина. – 2019. – № 1. – С. 17-22.
61. Савина, А. А. Потери потенциальных рождений в г. Москве за счет женского и мужского бесплодия / А. А. Савина, Е. В. Землянова, С. И. Фейгина // Здоровье мегаполиса. – 2022. – Т. 3, № 3. – С. 39-45. – DOI: 10.47619/2713-2617.zm.2022.v.3i3;39-45.
62. Сагамонова, К. Ю. Оптимальные сроки включения пациенток в протоколы ВРТ после ранее неэффективных программ / К. Ю. Сагамонова, С. В. Ломтева, К. Г. Савикина // Материалы XXVI Международной конференции Российской Ассоциации Репродукции Человека (7-10 сентября 2016, г. Москва). – Москва, 2016. – С. 86-87.
63. Сенькевич, О. А. Анализ обеспеченности витамином D физиологического течения перинатального периода в парах «мать-новорожденный», проживающих в Хабаровском крае / О. А. Сенькевич, М. А. Чебаргина, З. А. Плотоненко // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2023. – Т. 11 (3). – С. 22-28.
64. Согонян, Н. С. Роль АМЕ в репродуктивной системе женщин (обзор литературы) / Н. С. Согонян, И. Ф. Козаченко, Л. В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2017. – Т. 23. – С. 37-42.
65. Сорокин, Ю. А. Клинико-иммунологическое обоснование ультразвуковой кавитации в комплексном лечении бесплодия при хроническом эндометрите / Ю. А. Сорокин, О. А. Гизингер, В. Е. Радзинский // Гинекология. – 2022. – № 5. – С. 355-360.
66. Тимченко, Д. Д. Возраст и женское бесплодие: обзор отечественных и зарубежных исследований / Д. Д. Тимченко // Современная зарубежная психология. – 2024. – Т. 13, № 3. – С. 73–82. – DOI: 10.17759/jmfr.2024130307.

67. Тюмина, О. В. Организация медицинской помощи женщинам с бесплодием при низком овариальном резерве / О. В. Тюмина // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2022. – Vol. 24, № 6. – P. 110-114. – DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-6-110-114.
68. Урюпина, К. В. Исследование структуры бесплодия и исходов программ ВРТ у пациенток позднего репродуктивного возраста / К. В. Урюпина // Медицинский вестник Юга России. – 2022. – Т. 13 (2). – С. 59-71.
69. Хабаров, С. В. Мелатонин и его роль в циркадной регуляции репродуктивной функции : обзор литературы / С. В. Хабаров, Н. А. Стерликова // Вестник новых медицинских технологий. – 2022. – Т. 29 (3). – С. 15-31. – DOI: 10.24412/1609-2163-2022-3-17-31.
70. Хабаров, С. В. Опыт применения ультразвуковой кавитации у пациенток с хроническим эндометритом перед проведением программы ЭКО / С. В. Хабаров, О. С. Горская, Г. П. Русанова // Акушерство и гинекология. – 2020. – Т. 11. – С. 197-204. – URL: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.197-204> (дата обращения: 23.10.2021).
71. Целкович, Л. С. Значение определения эстрадиола и хорионического гонадотропина в протоколах ЭКО у женщин старшего репродуктивного возраста, угрожаемых по развитию синдрома гиперстимуляции яичников / Л. С. Целкович, О. В. Тюмина, Е. И. Прибыткова // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. – 2017. – Т. 28, №. 4. – С. 89-95.
72. Шамилова, А. М. Хронический эндометрит. Пути улучшения методов диагностики / А. М. Шамилова, И. Ю. Ильина, Е. И. Боровкова // Русский медицинский журнал (РМЖ). Мать и дитя. – 2021. – № 4 (3). – С. 243-249. – DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-3-243-249.
73. Шерназаров, Ф. Причины, методы лечения, диагностика и диагностика бесплодия у пожилых женщин / Ф. Шерназаров, С. Шерназаров // IQRO. – 2023. – Т. 1 (2). – С. 263-279.

74. Экспрессия LIF у женщин с повторными неудачами имплантации и хроническим эндометритом / Е. Аскар, А. Рыбина, А. Абшекенова [и др.] // Репродуктивная медицина (Центральная Азия). – 2023. – Т. 1 (54). – С. 25-28. – DOI: <https://doi.org/10.37800/RM.1.2023.25-28>.
75. Ярмолинская, М. И. Эффективность негормональной терапии в лечении женщин с климактерическим синдромом / М. И. Ярмолинская, Н. А. Татарова, В. Н. Касян // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2021. – Т. 21 (2). – С. 91-101.
76. Aasif, A. The role of kisspeptin in the pathogenesis of a polycystic ovary syndrome / A. Aasif, R. Alam, H. Ahsan // Endocrine Regulation. – 2023. – Vol. 57 (1). – P. 292-303. – DOI: 10.2478/enr-2023-0032.
77. Adebayo, F. O. Correlation of female age with outcome of IVF in a low- resource setting / F. O. Adebayo, N. Ameh, A. G. Adesiyun // International Journal Gynecology and Obstetrics. – 2023. – Vol. 161 (1). – P. 283-288. – DOI: 10.1002/ijgo.14545.
78. Aderaldo, J. F. Main topics in assisted reproductive market: A scoping review / J. F. Aderaldo, B. H. D. Rodrigues de Albuquerque, M. T. F. Câmara de Oliveira // PLoS One. – 2023. – Vol. 18 (8). – P. e0284099. – DOI: 10.1371/journal.pone.0284099.
79. Ahmadi, H. Long-Term Effects of ART on the Health of the Offspring / H. Ahmadi, L. Aghebati-Maleki, S. Rashidiani // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24 (17). – P. 13564. – DOI: 10.3390/ijms241713564.
80. Al-Lamee, H. Altered endometrial oestrogen-responsiveness and recurrent reproductive failure / H. Al-Lamee, A. Ellison, J. Drury // Reproduction & Fertility. – 2022. – Vol. 3 (1). – P. 30-38. – DOI: 10.1530/RAF-21-0093.
81. Arvis, P. Predicting the ovarian response: towards a determinant model and implications for practice / P. Arvis, C. Rongières, O. Pirrello // Journal of Assisted Reproduction and Genetics. – 2024. – Vol. 41 (1). – P. 213-222. – DOI: 10.1007/s10815-023-02975-w.

82. Ata, B. A new definition of recurrent implantation failure on the basis of anticipated blastocyst aneuploidy rates across female age / B. Ata, E. Kalafat, E. Somigliana // *Fertility and Sterility*. – 2021. – Vol. 116. – P. 1320-1327. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.06.045.
83. Ata, B. Effect of the endometrial thickness on the live birth rate: insights from 959 single euploid frozen embryo transfers without a cutoff for thickness / B. Ata, A. Liñán, E. Kalafat // *Fertility and Sterility*. – 2023. – Vol. 120 (1). – P. 91-98. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2023.02.035.
84. Babayev, E. Age-associated changes in cumulus cells and follicular fluid: the local oocyte microenvironment as a determinant of gamete quality / E. Babayev, F.E. Duncan // *Biology of Reproduction*. – 2022. – Vol. 106 (2). – P. 351-365. – DOI: 10.1093/biolre/ioab241.
85. Badeghiesh, A. How does IVF conception affect pregnancy complications in an older cohort of women, at least 38 years of age? Study of a population database / A. Badeghiesh, A. Hochberg, N. Elsherbini // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. – 2023. – Vol. 40 (9). – P. 2139-2148. – DOI: 10.1007/s10815-023-02890-0.
86. Bahri Khomami, M. Clinical management of pregnancy in women with polycystic ovary syndrome: An expert opinion / M. Bahri Khomami, H. J. Teede, A. E. Joham // *Clinical Endocrinology*. – 2022. – Vol. 97 (2). – P. 227-236. – DOI: 10.1111/cen.14723.
87. Bapayeva, G. The influence of advanced and obesity on pregnancy course and outcome in patients with diabetes mellitus / G. Bapayeva, S. Terzic, J. Dotlic // *Przegląd Menopauzalny*. – 2022. – Vol. 21 (3). – P. 170-179. – DOI: 10.5114/pm.2022.116351.
88. Ben Messaoud, K. The burden of very early dropout in infertility care: a nationwide population-based cohort study / K. Ben Messaoud, J. Bouyer, J. Guibert // *Human Reproduction*. – 2024. – Vol. 39 (1). – P. 102-107. – DOI: 10.1093/humrep/dead226.

89. Benkhalifa, M. Endometrium Immunomodulation to Prevent Recurrent Implantation Failure in Assisted Reproductive Technology / M. Benkhalifa, F. Joao, C. Duval // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23 (21). – P. 12787. – DOI: 10.3390/ijms232112787.
90. Bhaduri, M. Female Infertility in Chronic Kidney Disease / M. Bhaduri, I. Sarris, K. Bramham // *Diagnostics (Basel)*. – 2023. – Vol. 13 (20). – P. 3216. – DOI: 10.3390/diagnostics13203216.
91. Bishop, L. A. Endometriosis does not impact live-birth rates in frozen embryo transfers of euploid blastocysts / L. A. Bishop, J. Gunn, S. Jahandideh // *Fertility and Sterility*. – 2021. – Vol. 115. – P. 416-422. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.07.050.
92. Blanco-Breindel, M. F. Endometrial Receptivity / M. F. Blanco-Breindel, M. Singh, J. Kahn // *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. – 2024. – Jan. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36512665/> (дата обращения: 01.01.2024).
93. Boucher, A. Implantation Failure in Endometriosis Patients: Etiopathogenesis / A. Boucher, G. Brichant, V. Gridelet // *Journal Clinical Medicine*. – 2022. – Vol. 11 (18). – P. 5366. – DOI: 10.3390/jcm11185366.
94. Bouic, P. J. Endometriosis and infertility: the hidden link between endometritis, hormonal imbalances and immune dysfunctions preventing implantation! / P. J. Bouic // *JBRA Assisted Reproduction*. – 2023. – Vol. 27 (2). – P. 144-146. – DOI: 10.5935/1518-0557.20230015.
95. Bourdon, M. The deferred embryo transfer strategy improves cumulative pregnancy rates in endometriosis-related infertility: A retrospective matched cohort study / M. Bourdon, P. Santulli, C. Maignien // *PLoS ONE*. – 2018. – Vol. 13. – P. e0194800. – DOI: 10.1371/journal.pone.0194800.
96. Buderatska, N. Embryological Characteristics and Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy of Embryos Derived from Cryopreserved Oocytes of Women of Different Reproductive Ages / N. Buderatska, J. Gontar, M. Petrushko // *Bioreserve Biobank*. – 2023. – Vol. 21 (6). – P. 576-582. – DOI: 10.1089/bio.2022.0055.

97. Buhling, K. J. Recommendation and intake of dietary supplements periconceptional and during pregnancy: results of a nationwide survey of gynecologists / K. J. Buhling, M. Scheuer, E. Laakman // *Archives Gynecology and Obstetrics*. – 2023. – Vol. 308 (6). – P. 1863-1869. – DOI: 10.1007/s00404-023-07167-6.
98. Busnelli, A. How common is real repeated implantation failure? An indirect estimate of the prevalence / A. Busnelli, M. Reschini, L. Cardellicchio // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2020. – No 40. – P. 91-97. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2019.10.014.
99. Calcaterra, V. The Impact of Modifiable Environmental, Nutritional, and Lifestyle Factors on Puberty, Reproductive Function, and Fertility in Children and Adolescents / V. Calcaterra, G. Zuccotti // *Children (Basel)*. – 2023. – Vol. 10 (5). – P. 781. – DOI: 10.3390/children10050781.
100. Campos, G. Healthy Live Births after the Transfer of Mosaic Embryos: Self-Correction or PGT-A Overestimation? / G. Campos, R. Sciorio, S. Fleming // *Genes (Basel)*. – 2023. – Vol. 15 (1). – P. 18. – DOI: 10.3390/genes15010018.
101. Chambers, G. M. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology, 2014 / G. M. Chambers, S. Dyer, F. Zegers-Hochschild // *Human Reproduction*. – 2021. – Vol. 36 (11). – P. 2921-2934. – DOI: 10.1093/humrep/deab198.
102. Chang, Y. Autologous platelet-rich plasma infusion improves clinical pregnancy rate in frozen embryo transfer cycles for women with thin endometrium / Y. Chang, J. Li, L. N. Wei // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – Vol. 98 (3). – P. e14062. – DOI: 10.1097/MD.00000000000014062.
103. Charalambous, C. Aneuploidy in mammalian oocytes and the impact of maternal ageing / C. Charalambous, A. Webster, M. Schuh // *Natures Reviews Molecular Cell Biology*. – 2023. – Vol. 24 (1). – P. 27-44. – DOI: 10.1038/s41580-022-00517-3.
104. Charnpinyo, N. Embryo Selection for IVF using Machine Learning Techniques Based on Light Microscopic Images of Embryo and Additional Factors / N. Charnpinyo, K. Suthicharoenpanich, K. Onthum // *Annu Int Conf IEEE*

- Engineering in Medicine and Biology Society. – 2023. – Vol. 2023. – P. 1-4. – DOI: 10.1109/EMBC40787.2023.10340767.
105. Chiang, J. L. Mitochondria in Ovarian Aging and Reproductive Longevity / J. L. Chiang, P. Shukla, K. Pagidas // *Ageing Research Review*. – 2020. – Vol. 63. – P. 101168. – DOI: 10.1016/j.arr.2020.101168.
 106. Cipolla-Neto, J. T. The Crosstalk between Melatonin and Sex Steroid Hormones / J. T. Cipolla-Neto, F. G. Amaral, J. M. Soares // *Neuroendocrinology*. – 2022. – Vol. 112 (2). – P. 115-129. – DOI: 10.1159/000516148.
 107. Concepción-Zavaleta, M. J. Endocrine factors associated with infertility in women: an updated review / M. J. Concepción-Zavaleta, J. C. Coronado-Arroyo, J. E. Quiroz-Aldave // *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*. – 2023. – Vol. 18 (5). – P. 399-417. – DOI: 10.1080/17446651.2023.2256405.
 108. Concepción-Zavaleta, M. J. Thyroid dysfunction and female infertility. A comprehensive review / M. J. Concepción-Zavaleta, J. C. Coronado-Arroyo, J. E. Quiroz- Aldave // *Diabetes, Metabolic Syndrome*. – 2023. – Vol. 17 (11). – P. 102876. – DOI: 10.1016/j.dsx.2023.102876.
 109. Corachán, A. Novel therapeutic targets to improve IVF outcomes in endometriosis patients: A review and future prospects / A. Corachán, N. Pellicer, A. Pellicer // *Human Reproduction Update*. – 2021. – Vol. 27. – P. 923-972. – DOI: 10.1093/humupd/dmab014.
 110. Csabafi, K. A Brain Region-Dependent Alteration in the Expression of Vasopressin, Corticotropin-Releasing Factor, and Their Receptors Might Be in the Background of Kisspeptin-13-Induced Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activation and Anxiety in Rats / K. Csabafi, K. E. Ibos, É. Bodnár // *Biomedicines*. – 2023. – Vol. 11 (9). – P. 2446. – DOI: 10.3390/biomedicines11092446.
 111. Dogra, Y. Autologous platelet-rich plasma optimizes endometrial thickness and pregnancy outcomes in women with refractory thin endometrium of varied aetiology during fresh and frozen-thawed embryo transfer cycles / Y. Dogra, N. Singh, P. Vanamail / Y. Dogta, N. Singh, P. Vanamail // *JBRA Assisted*

- Reproduction. – 2022. – Vol. 26 (1). – P. 13-21. – DOI: 10.5935/1518-0557.20210037.
112. Eftekhari, M. Effectiveness of Autologous Platelet-Rich Plasma Therapy in Women with Repeated Implantation Failure: A Randomized Clinical Trial / M. Eftekhari, N. Neghab, P. Khani // International Journal of Fertility and Sterility. – 2024. – Vol. 18 (2). – P. 62-166. – DOI: 10.22074/ijfs.2023.553636.1305.
113. Egawa, M. Hypertensive Disorders of Pregnancy are Associated with Cardiovascular Disease in Middle- and Older-Aged Japanese Women / M. Egawa, E. Kanda, H. Ohtsu // Journal of Atherosclerosis and Thrombosis. – 2023. – Vol. 30 (10). – P. 1420-1426. – DOI: 10.5551/jat63816.
114. Erdoğan, K. Are epigenetic mechanisms and effective in male and female infertility? / K. Erdoğan, N. T. Sanlier, N. Sanlier // Journal of Nutritional Science. – 2023. – Vol. 12. – P. e103. – DOI: 10.1017/jns.2023.62.
115. Ermolenko, K. S. Effectiveness of IVF women older reproductive age / K. S. Ermolenko, K. V. Bondarenko, Ch. G. Gagaev // Bulletin of Peoples : Friendship University of Russia. Series «Medicine. Obstetrics and Gynecology». – 2012. – No 5. – P. 13-16.
116. Esbert, M. Addition of rapamycin or co-culture with cumulus cells from younger reproductive age women does not improve rescue in vitro oocyte maturation or euploidy rates in older reproductive age women / M. Esbert, X. Tao, A. Ballesteros // Molecular Human Reproduction. – 2024. – Vol. 30 (2). – P. gaad048. – DOI: 10.1093/molehr/gaad048.
117. European Society of Human Reproduction and Embryology. – URL: <https://www.eshre.eu> (дата обращения: 25.12.2022).
118. Farifteh, F. Intrauterine administration of autologous peripheral blood mononuclear cells regulates the endometrium estrogen and progesterone receptor expression: An RCT / F. Farifteh, E. Fazeli, S. Zeinab Hosseini // International Journal Reproduction Biomedical. – 2023. – Vol. 21 (4). – P. 343-354. – DOI: 10.18502/ijrm.v21i4.13273.

119. Feng, Q. Effect of growth hormone administration on ameliorating pregnancy outcome in women with advanced maternal age and exploration of its optimized utilization / Q. Feng, Y. Wang, H. Han // *Frontiers Endocrinology (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1270897. – DOI: 10.3389/fendo.2023.1270897.
120. Fenwick, E. The value of treatment for infertility: A systematic literature review of willingness-to-pay thresholds and approaches for determining the cost effectiveness of fertility therapies / E. Fenwick, A. Eze, T. D'Hooghe // *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynecology*. – 2023. – Vol. 89. – P. 102340. – DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2023.102340.
121. Fertilization rate as a novel indicator for cumulative live birth rate: a multicenter retrospective cohort study of 9,394 complete in vitro fertilization cycles / G. Scaravelli, C. Zacà, P.E. Levi [et al.] // *Fertil Steril*. – 2021. – Vol. 116 (3). – P. 766-773. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.04.006.
122. Franasiak, J. M. A review of the pathophysiology of recurrent implantation failure / J. M. Franasiak, D. Alecsandru, E. J. Forman // *Fertility and Sterility*. – 2021. – Vol. 116 (6). – P. 1436-1448. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.09.014.
123. Ganer Herman, H. Does embryo quality at transfer affect obstetric outcomes and placental findings? / H. Ganer Herman, A. Volodarsky-Perel, T. N. Ton Nu // *Human Reproduction*. – 2023. – Vol. 38 (5). – P. 853-859. – DOI: 10.1093/humrep/dead045.
124. Gao, J. Factors influencing clinical pregnancy outcome of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection in older women / J. Gao, Z. Liu, Y. Zhong // *African Health Science*. – 2023. – Vol. 23 (2). – P. 632-639. – DOI: 10.4314/ahs.v23i2.73.
125. Garavelas, A. Clinical Benefit of Autologous Platelet-Rich Plasma Infusion in Ovarian Function Rejuvenation: Evidence from a Before-After Prospective Pilot Study / A. Garavelas, P. Mallis, E. Michalopoulos // *Medicines (Basel)*. – 2023. – Vol. 10 (3). – P. 19. – DOI: 10.3390/medicines10030019.

126. Garcia, S. M. New choreographies of inequalities in reproduction: an overview of assisted reproduction market / S. M. Garcia // *JBRA Assist Reproduction*. – 2023. – Vol. 27 (4). – P. 739-46. – DOI: 10.5935/1518-0557.20230026.
127. Gardner, D. K. In vitro culture of human blastocysts / D. K. Gardner, W. B. Schoolcraft // *Towards reproductive certainty: infertility and genetics beyond* / ed. by R. Jansen, D. Mortimer. – 1999: the plenary proceedings of the 11th World Congress on in vitro fertilization and human reproductive genetics. – Parthenon Pub. Group, 1999. – P. 378-388.
128. Genest, G. Immunomodulation for recurrent implantation failure: where are we now? / G. Genest, S. Banjar, W. Almasry // *Reproduction*. – 2022. – REP-22-0150. – DOI: 10.1530/REP-22-0150.
129. Gleicher, N. We have reached a dead end for preimplantation genetic testing for aneuploidy / N. Gleicher, D. H. Barad, P. Patrizio // *Human Reproduction*. – 2022. – Vol. 37 (12). – P. 2730-2734. – DOI: 10.1093/humrep/deac052.
130. Guo, Y. M. Research progress of melatonin (MT) in improving ovarian function: a review of the current status / Y. M. Guo, T. C. Sun, H. P. Wang // *Aging (Albany NY)*. – 2021. – Vol. 13 (13). – P. 17930-17947. – DOI: 10.18632/aging.203231.
131. Han, M. Increased expression of HMGB1 in the implantation phase endometrium is related to recurrent implantation failure / M. Han, Y. Cao, W. Zhou // *Molecular Biologic Reproduction*. – 2022. – Vol. 49 (3). – P. 1701-1710. – DOI: 10.1007/s11033-021-06979-6.
132. Hassabelnabi, E. A. F. Flexible Antagonist versus Agonist Flare Protocol in Women above 40 Undergoing IVF, A retrospective Cohort Study / E. A. F. Hassabelnabi, M. A. Badreldin, M. A. Behery // *JBRA Assisted Reproduction*. – 2023. – Vol. 27 (3). – P. 381-385. – DOI: 10.5935/1518-0557.20220064.
133. Hazlina, N. H. Worldwide prevalence, risk factors and psychological impact of infertility among women: a systematic review and meta-analysis / N. H. Hazlina, M. N. Norhayati, I. S. Bahari // *BMJ Open*. – 2022. – Vol. 12 (3). – P. e057132. – DOI: 10.1136/bmjopen-2021-057132.

134. He, X. Cost-effectiveness of preimplantation genetic testing for aneuploidy for women with subfertility in China: an economic evaluation using evidence from the CESE-PGS trial / X. He, X. Wang, J. Shen // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2023. – Vol. 23 (1). – P. 254. – DOI: 10.1186/s12884-023-05563-z.
135. Hong, X. The current situation and future directions for the study on time- to-pregnancy: a scoping review / X. Hong, J. Yin, W. Wang // *Reproduction Health*. – 2022. – No 19 (1). – P. 150. – DOI: 10.1186/s12978-022-01450-6.
136. Hosseinisadat, R. Intra-ovarian infusion of autologous platelet- rich plasma in women with poor ovarian reserve: A before and after study / R. Hosseinisadat, A. Farsi Nejad, F. Mohammadi // *European Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2023. – Vol. 80. – P. 60-63. – DOI: 10.1016/j.ejogrb.2022.11.001.
137. Hu, K. L. Advances in clinical applications of kisspeptin-GnRH pathway in female reproduction / K. L. Hu, Z. Chen, X. Li // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2022. – Vol. 81. – P. 1-20. – DOI: <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00953-y>.
138. Hu, X. Cyclical endometrial repair and regeneration: Molecular mechanisms, diseases, and therapeutic interventions / X. Hu, H. Wu, X. Yong // *MedComm*. – 2023. – Vol. 4 (6). – P. e425. – DOI: 10.1002/mco2.425.
139. Huang, X. D. Impact of endometriosis on embryo quality and endometrial receptivity in women undergoing assisted reproductive technology / X. D. Huang, Z. Y. Sun, Q. Yu // *Reproduction Biologic*. – 2023. – Vol. 23 (2). – P. 100733. – DOI: 10.1016/j.repbio.2023.100733.
140. Iverson, H. You don't want kids?!: Exploring evaluations of those without children / H. Iverson, B. Lindsay, C. C. MacInnis // *Journal of Social Psychology*. – 2020. – Vol. 160 (5). – P. 719-733. – DOI: 10.1080/00224545.2020.1742080.
141. Iwase, A. Anti-Mullerian hormone beyond an ovarian reserve marker: the relationship with the physiology and pathology in the life-long follicle development / A. Iwase, Y. Hasegawa, Y. Tsukui // *Front Endocrinology (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1273966. – DOI: 10.3389/fendo.2023.1273966.

142. Jain, M. Assisted Reproductive Technology (ART) Techniques / M. Jain, M. Singh // StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. – 2022. – Jan. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576409/> (дата обращения: 01.01.2024).
143. Jain, M. Environmental Toxins and Infertility / M. Jain, M. Singh // StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. – 2024. – Jan. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35015404/> (дата обращения: 01.01.2024).
144. Jiang, V. S. Noninvasive genetic screening: current advances in artificial intelligence for embryo ploidy prediction / V. S. Jang, C. L. Bormann // Fertility and Sterility. – 2023. – Vol. 120 (2). – P. 228-234. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2023.06.025.
145. Jiang, Y. Advances in Oocyte Maturation In Vivo and In Vitro in Mammals / Y. Jiang, Y. He, X. Pan // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24 (10). – P. 9059. – DOI: 10.3390/ijms24109059.
146. Jiang, Y. The effect of embryo selection using time-lapse monitoring on IVF/ICSI outcomes: A systematic review and meta-analysis / Y. Jiang, L. Wang, S. Wang // Journal of Obstetrics and Gynecology Research. – 2023. – Vol. 9 (12). – P. 2792-2803. – DOI: 10.1111/jog.15797.
147. Juneau, C. Patients with endometriosis have aneuploidy rates equivalent to their age-matched peers in the in vitro fertilization population / C. Juneau, E. Kraus, M. Werner // Fertility and Sterility. – 2017. – Vol. 108. – P. 284-288. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.05.038.
148. Jurczewska, J. The Influence of Diet on Ovulation Disorders in Women-A Narrative Review / J. Jurczewska, D. Szostak-Węgierek // Nutrients. – 2022. – Vol. 14 (8). – P. 1556. – DOI: 10.3390/nu14081556.
149. Kataria, D. Reproductive Risk Factors Associated with Female Infertility in Sonapat District of Haryana: A Community Based Cross-Sectional Study / D. Kataria, B. Rani, A. Punia // Journal of Human Reproductive Sciences. – 2023. – Vol. 16 (3). – P. 204-211. – DOI: 10.4103/jhrs.jhrs_82_23.

150. Kieu, V. Live birth rates in day 5 fresh versus vitrified single blastocyst transfer cycles: A cross-sectional analysis / V. Kieu, A. Polyakov, G. Rozen // *International Journal of Reproductive BioMedicine*. – 2023. – Vol. 21 (3). – P. 245-254. – DOI: 10.18502/ijrm.v21i3.13200.
151. Kim, S. Y. Mitochondrial DNA content in eggs as a maternal effect / S. Y. Kim, V. Chiara, N. Álvarez-Quintero // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2022. – Vol. 289 (1967). – P. 20212100. – DOI: 10.1098/rspb.2021.2100.
152. Kim, W. Fetal abdominal obesity and the ensuing adverse perinatal outcomes in older obese pregnant women with or without obesity and with normal glucose tolerance / W. Kim, S. K. Park, Y. L. Kim // *Scientific Reports*. – 2023. – Vol. 13 (1). – P. 16206. – DOI: 10.1038/s41598-023-43362-w.
153. Kobayashi, R. Aberrant activation of estrogen receptor-alpha signaling in Mettl14-deficient uteri impairs embryo implantation / R. Kobayashi, R. Kawabata-Iwakawa, J. Terakawa // *FASEB Journal*. – 2023. – Vol. 37 (8). – P. e23093. – DOI: 10.1096/fj.202300735R.
154. Kordowitzki, P. Oocyte Aging: A Multifactorial Phenomenon in A Unique Cell / P. Kordowitzki, S. Graczyk, A. Haghani // *Aging and Disease*. – 2024. – Vol. 15 (1). – P. 5-21. – DOI: 10.14336/AD.2023.0527.
155. Kose, S. I. Imaging in Male Infertility / S. I. Kose // *Current problems in diagnostic radiology*. – 2023. – Vol. 52 (5). – P. 439-447. – DOI: 10.1067/j.cpradiol.2023.05.012.
156. Landry, M. Maternal and perinatal outcomes in women aged 42 years or older / M. Landry, M. Allouche, C. Vayssière // *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. – 2023. – Sep 29. – DOI: 10.1002/ijgo.15160. Online ahead of print.
157. Lattes, K. A freeze-all strategy does not increase live birth rates in women of advanced reproductive age / K. Lattes, S. López, M. A. Checa // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. – 2020. – Vol. 37 (10). – P. 2443-2451. – DOI: 10.1007/s10815-020-01934-z.

158. Lazim, N. Expression of HOXA10 Gene in Women with Endometriosis: A Systematic Review / N. Lazim, M. H. Elias, Z. Sutaji // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24 (16). – P. 12869. – DOI: 10.3390/ijms241612869.
159. Lédée, N. The uterine immune profile: A method for individualizing the management of women who have failed to implant an embryo after IVF/ICSI / N. Lédée, M. Petitbarat, L. Prat-Ellenberg // *Journal of reproductive immunology*. – 2020. – Vol. 142. – P. 103207. – DOI: 10.1016/j.jri.2020.103207.
160. Lee, H. S. Comparative analysis of infertility healthcare utilization before and after insurance coverage of assisted reproductive technology: A cross-sectional study using National Patient Sample data / H. S. Lee, Y. C. Lim, D. I. Kim // *PLoS One*. – 2023. – Vol. 18 (11). – P. e0294903. – DOI: 10.1371/journal.pone.0294903.
161. Lens, J. W. The embryo – practice. Laboratory aspects of in-vitro fertilization / J. W. Lens, P. M. Rijnders // *N.V. Organon Nederlands*. – 1996. – P. 177-204.
162. Lessey, B. A. Endometrial receptivity in the eutopic endometrium of women with endometriosis: It is affected, and let me show you why / B. A. Lessey, J. J. Kim // *Fertility and Sterility*. – 2017. – Vol. 108. – P. 19-27. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.05.031.
163. Lessey, B. A. What exactly is endometrial receptivity? / B. A. Lessey, S. L. Young // *Fertility and Sterility*. – 2019. – Vol. 111. – P. 611-617. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.02.009.
164. Li, C. J. Value of Intrauterine Autologous Platelet-Rich Plasma Therapy on Endometrial Receptivity: A Literature Review / C. J. Li, Y. D. Zhan, X. L. Zhou // *Current Medical Science*. – 2023. – Vol. 43 (6). – P. 1075-1083. – DOI: 10.1007/s11596-023- 2816-4.
165. Li, J. The role of maternal age on adverse pregnancy outcomes among primiparous women with singleton birth: a retrospective cohort study in urban areas of China / J. Li, J. Yan, W. Jiang // *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. – 2023. – Vol. 36 (2). – P. 2250894. – DOI: 10.1080/14767058.2023.2250894.

166. Li, X. The effect of letrozole overlapped with gonadotropin on IVF outcomes in women with DOR or aged over 40 years old with repeated cycles / X. Li, J. Chen, Y. Zhao // *Journal of Ovarian Research*. – 2023. – Vol. 16 (1). – P. 193. – DOI: 10.1186/s13048-023-01273-4.
167. Li, X. The effect of ovarian injection of autologous platelet rich plasma in patients with poor ovarian responder: a systematic review and meta-analysis / X. Li, H. Liu, G. Lin // *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1292168. – DOI: 10.3389/fendo.2023.1292168.
168. Liu, J. J. Research Progress in the Regulation of Follicle Development by Melatonin / J. J. Liu, Z. Y. Li, L. M. Liu // *Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao*. – 2023. – Vol. 45 (6). – P. 997-1004. – DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.15473.
169. Liu, X. Who may benefit from an increased gonadotropin dosing in predicted poor responders undergoing IVF/ICSI? A secondary analysis assessing treatment selection markers of a randomized trial / X. Liu, W. Li, B. W. Mol // *European Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2023. – Vol. 291. – P. 76-81. – DOI: 10.1016/j.ejogrb.2023.10.012.
170. Liu, Y. Comparison of anti-Mullerian hormone and antral follicle count in the prediction of ovarian response: a systematic review and meta-analysis / Y. Liu, Z. Pan, Y. Wu // *Journal of Ovarian Research*. – 2023. – Vol. 16 (1). – P. 117. – DOI: 10.1186/s13048-023-01202-5.
171. Liu, Y. The Current Practice of Assisted Hatching for Embryos in Fertility Centres: a General Survey / Y. Liu, C. Jones, K. Coward // *Reproductive Sciences*. – 2022. – Vol. 29. – P. 2664-2673. – DOI: 10.1007/s43032-022-00931-0.
172. Lodge, C. Oocyte aneuploidy National Academy of Sciences ploidy – more tools to tackle an old problem / C. Lodge, M. Herbert // *National Academy of Sciences USA*. – 2020. – Vol. 117. – P. 11850-11852. – DOI: 10.1073/pnas.2005739117.
173. Luo, R. Personalized versus standard frozen-thawed embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis / R. Luo, J. Wang, Y. Liu // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. – 2023. – Vol. 40 (4). – P. 719-734. – DOI: 10.1007/s10815-022-02710-x.

174. Ma, H. Deleterious MtDNA Mutations Are Common in Mature Oocytes / H. Ma, T. Hayama, C. Van Dyken // *Biology of Reproduction*. – 2020. – Vol. 102. – P. 607-619. – DOI: 10.1093/biolre/ioz202.
175. Ma, J. Recurrent implantation failure: A comprehensive summary from etiology to treatment / J. Ma, W. Gao, D. Li // *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 13. – P. 1061766. – DOI: 10.3389/fendo.2022.1061766.
176. Madero, J. I. Preimplantation genetic testing in assisted reproduction / J. I. Madero, M. C. Manotas, M. García-Acero // *Minerva Obstetrics Gynecology*. – 2023. – Vol. 75 (3). – P. 260-272. – DOI: 10.23736/S2724-606X.21.04805-3.
177. Makrygiannakis, A. Intrauterine CRH-treated PBMC in repeated implantation failure / A. Makrygiannakis, T. Vrekoussis, F. Makrygiannakis // *European Journal of Clinical Investigation*. – 2019. – Vol. 49. – P. e13084. – DOI: 10.1111/eci.13084.
178. Mei, Y. Does endometrial receptivity array improve reproductive outcomes in euploid embryo transfer cycles? a systematic review / Y. Mei, Y. Wang, X. Ke // *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1251699. – DOI: 10.3389/fendo.2023.1251699.
179. Merhi, Z. Intraovarian Platelet-rich Plasma Administration Induced Spontaneous Ovulation in an Anovulatory Woman With PCOS / Z. Merhi, M. Mouanness, R. Wang // *JCEM Case Reports*. – 2023. – Vol. 1 (2). – P. luad038. – DOI: 10.1210/jcemcr/luad038.
180. Meyer, R. Outcomes of singlet on versus twin pregnancies in the fifth and sixth decades / R. Meyer, R. Orvieto, A. Israel // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2018. – Vol. 231. – P. 255-261. – DOI: 10.1016/j.ejogrb.2018.11.007.
181. Mihalas, B. P. Age-dependent loss of cohesion protection in human oocytes / B. P. Mihalas, G. H. Pieper, M. Aboelenain // *Current Biology*. – 2024. – Vol. 34 (1). – P. 117-131. – DOI: 10.1016/j.cub.2023.11.061.
182. Mirzaasgari, H. Role of Psychological Distress in the Relationship between Personality Dimensions and Pregnancy Outcome of Women Undergoing Assisted Reproductive Treatment (IVF/ICSI) / H. Mirzaasgari, F. Momeni, A. Pourshahbaz

- // Iran Journal Psychiatry. – 2023. – Vol. 18 (2). – P. 153-164. – DOI: 10.18502/ijps.v18i2.12366.
183. Mitchell, J. M. Can Anti-Mullerian Hormone levels predict future pregnancy outcomes in recurrent pregnancy loss? / J. M. Mitchell, S. Cullen, A. McEvoy // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2023. – Vol. 284. – P. 20-23. – DOI: 10.1016/j.ejogrb.2023.03.006.
184. Moghadam, A. R. E. Oocyte quality and aging / A. R. E. Moghadam, M. T. Moghadam, M. Hemadi // JBRA assisted reproduction. – 2022. – Vol. 26 (1). – P. 105-122. – DOI: 10.5935/1518-0557.20210026.
185. Mouanness, M. Use of Intra-uterine Injection of Platelet-rich Plasma (PRP) for Endometrial Receptivity and Thickness: a Literature Review of the Mechanisms of Action / M. Mouanness, S. Ali-Bynom, J. Jackman // Reproductive Science. – 2021. – Vol. 28 (6). – P. 1659-1670. – DOI: 10.1007/s43032-021-00579-2.
186. Muteshi, C. M. The effect of endometriosis on live birth rate and other reproductive outcomes in ART cycles: A cohort study / C. M. Muteshi, E. O. Ohuma, T. Child // Human Reproduction Open. – 2018. – Vol. 4. – P. hoy016. – DOI: 10.1093/hropen/hoy016.
187. Neeser, N. B. Building a family at advanced parental age: a systematic review on the risks and opportunities for parents and their offspring / N. B. Neeser, A. Martani, E. De Clercq // Human Reproduction Open. – 2023. – Vol. 4. – P. hoad042. – DOI: 10.1093/hropen/hoad042.
188. Özdamar, Ö. Impact of trophoectoderm biopsy for preimplantation genetic testing on serum β -hCG levels, time of delivery and birthweight following frozen embryo transfer cycles / Ö. Özdamar, F. K. Boynukalin, M. Gültomruk // Gynecological Endocrinology. – 2023. – Vol. 39 (1). – P. 222-278. – DOI: 10.1080/09513590.2023.2227278.
189. Paffoni, A. Live Birth After Oocyte Donation In Vitro Fertilization Cycles in Women With Endometriosis: A Systematic Review and Meta-Analysis / A. Paffoni, M. Casalechi, D. De Ziegler // JAMA Netw Open. – 2024. – Vol. 7 (1). – P. e2354249. – DOI: 10.1001/jamanetworkopen.

190. Pan, B. Melatonin improves the first cleavage of parthenogenetic embryos from vitrified-warmed mouse oocytes potentially by promoting cell cycle progression / B. Pan, I. H. Qazi, S. Guo // *Journal of Animal Science and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 12 (84). – P. 1-17. – URL: <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00605-y> (дата обращения: 23.10.2021).
191. Panda, S. R. A Systematic Review Evaluating the Efficacy of Intra-Ovarian Infusion of Autologous Platelet-Rich Plasma in Patients Poor Ovarian Reserve or Ovarian Insufficiency / S. R. Panda, S. Sachan, S. Hota // *Cureus*. – 2020. – Vol. 12 (12). – P. e12037. – DOI: 10.7759/cureus.12037.
192. Pantos, K. The Role of Interleukins in Recurrent Implantation Failure: A Comprehensive Review of the Literature / K. Pantos, S. Grigoriadis, E. Maziotis // *International Journal of Molecular Sciences* – 2022. – Vol. 23 (4). – P. 2198. – DOI: 10.3390/ijms23042198.
193. Patel, N. Distinct gut and vaginal microbiota in women with recurrent implantation failure and unexplained infertility / N. Patel, N. Patel, S. Pal // *BMC Womens Health*. – 2022. – Vol. 22 (1). – P. 113. – DOI: 10.1186/s12905-022-01681-6.
194. Pathare, A. D. S. Endometrial receptivity in women of advanced age: an underrated factor in infertility / A. D. S. Pathare, M. Loid, M. Saare // *Human Reproduction Update*. – 2023. – Vol. 29 (6). – P. 773-793. – DOI: 10.1093/humupd/dmad019.
195. Pervushina, A. A. Regarding repeated implantation failures coupled to assisted reproductive technologies / A. A. Pervushina, J. Kh. Khizroeva, V. O. Bitsadze // *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. – 2024. – Vol. 18 (3). – P. 401-413. – URL: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2024.508>.
196. Pourmoghadam, Z. Intrauterine administration of autologous hCG- activated peripheral blood mononuclear cells improves pregnancy outcomes in patients with recurrent implantation failure; A double-blind, randomized control trial study / Z. Pourmoghadam, M. S. Soltani-Zangbar, G. Sheikhsari // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2020. – Vol. 142. – P. 103-182. – DOI: 10.1016/j.jri.2020.103182.

197. Prodan. C. I. Bridging the Gap Between Hypertensive Disorders of Pregnancy and Cognitive Decline in Older Women / C. I. Prodan // *Neurology*. – 2023. – Vol. 100 (19). – P. 893-894. – DOI: 10.1212/WNL.0000000000207237.
198. Qu, H. Reproductive outcomes of single frozen-thawed embryo transfer in patients with endometriosis after preimplantation genetic testing / H. Qu, H. Lv, Y. Kang // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. – 2024. – Vol. 41 (2). – P. 429-435. – DOI: 10.1007/s10815-023-02996-5.
199. Reiter, R. J. Aging-Related Ovarian Failure and Infertility: Melatonin to the Rescue / R. J. Reiter, R. Sharma, A. Romero // *Antioxidants (Basel)*. – 2023. – Vol. 12 (3). – P. 695. – DOI: 10.3390/antiox12030695.
200. Ren, L. L. Transforming growth factor- β signaling: From tissue fibrosis to therapeutic opportunities / L. L. Ren, X. J. Li, T. T. Duan // *Chemico-Biological Interactions*. – 2023. – Vol. 369. – P. 110-289. – DOI: 10.1016/j.cbi.2022.110289.
201. Ribeiro, M. A. Sperm selection by birefringence: a promising non-invasive tool to improve ICSI outcomes / M. A. Ribeiro, M. G. D. Broi, M. B. Rose // *JBRA Assist Reproduction*. – 2023. – Vol. 27 (2). – P. 234-240. – DOI: 10.5935/1518-0557.20220055.
202. Rodrigues, L. G. Maternal pineal melatonin in gestation and lactation physiology, and in fetal development and programming, *General and Comparative* / L. G. Rodrigues, L. Motta-Teixeira, C. C. Gallo // *Endocrinology*. – 2021. – Vol. 300. – P. 113633. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ygcn.2020.113633>.
203. Rozen, G. An algorithm to personalise the diagnosis of recurrent implantation failure based on theoretical cumulative implantation rate / G. Rozen, P. Rogers // *Human Reproduction*. – 2021. – Vol. 36 (6). – P. 1463-1468. – DOI: 10.1093/humrep/deab091.
204. Sahraian, K. Effectiveness of mindful self-compassion therapy on psychopathology symptoms, psychological distress and life expectancy in infertile women treated with in vitro fertilization: a two-arm double-blind parallel randomized controlled trial / K. Sahraian, H. Abdollahpour Ranjbar, B. Namavar

- Jahromi // *BMC Psychiatry*. – 2024. – Vol. 24 (1). – P. 174. – DOI: 10.1186/s12888-023-05411-6.
205. Sallée, C. Uterine Factor Infertility, a Systematic Review / C. Sallée, F. Margueritte, P. Marquet // *Journal of Clinical Medicine*. – 2022. – Vol. 11 (16). – P. 4907. – DOI: 10.3390/jcm11164907.
206. Salmeri, N. Concomitant Autoimmunity in Endometriosis Impairs Endometrium-Embryo Crosstalk at the Implantation Site: A Multicenter Case-Control Study / N. Salmeri, G. Gennarelli, V. S. Vanni // *Journal of Clinical Medicine*. – 2023. – Vol. 12 (10). – P. 3557. – DOI: 10.3390/jcm12103557.
207. Sergouniotis, F. First 15 Years of Assisted Reproductive Technology Using Washed Sperm in HIV-Positive Individuals Under Antiretroviral Therapy: Sweden's Nationwide Outcomes / F. Sergouniotis, J. I. Olofsson, K. Westling // *AIDS Patient Care STDS*. – 2023. – Vol. 37 (12). – P. 566-573. – DOI: 10.1089/apc.2023.0163.
208. Sevgin, K. SIRT1 overexpression by melatonin and resveratrol combined treatment attenuates premature ovarian failure through activation of SIRT1/FOXO3a/BCL2 pathway / K. Sevgin, P. Erguven // *Biochemical and Biophysical Research Communications* – 2024. – Vol. 696. – P. 149506. – DOI: 10.1016/j.bbrc.2024.149506.
209. Shalma, N. M. The efficacy of intrauterine infusion of platelet rich plasma in women undergoing assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis / N. M. Shalma, H. M. Salamah, A. Alsawareah // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2023. – Vol. 23 (1). – P. 843. – DOI: 10.1186/s12884-023-06140-0.
210. Simopoulou, M. Getting to Know Endometriosis-Related Infertility Better: A Review on How Endometriosis Affects Oocyte Quality and Embryo Development / M.. – 2021. – Vol. 9. – P. 273. – DOI: 10.3390/biomedicines9030273.
211. Skorupskaite, K. Neurokinin 3 Receptor Antagonism Reveals Roles for Neurokinin B in the Regulation of Gonadotropin Secretion and Hot Flashes in Postmenopausal Women / K. Skorupskaite, J. T. George, J. D. Veldhuis // *Neuroendocrinology*. – 2018. – Vol. 106 (2). – P. 148-157. – DOI: 10.1159/000473893.

212. Solovova, O. A. Genetics of Oocyte Maturation Defects and Early Embryo Development Arrest / O. A. Solovova, V. B. Chernykh // *Genes (Basel)*. – 2022. – Vol. 13 (11). – P. 1920. – DOI: 10.3390/genes13111920.
213. Somigliana, E. Endometriosis and IVF treatment outcomes: unpacking the process / E. Somigliana, L. Li Piani, A. Paffoni // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2023. – Vol. 21 (1). – P. 107. – DOI: 10.1186/s12958-023-01157-8.
214. Somigliana, E. Recurrent implantation failure: a plea for a widely adopted rational definition / E. Somigliana, A. Busnelli, E. Kalafat // *Reproductive Biomed Online*. – 2022. – Vol. 45 (2). – P. 183-185. – DOI: 10.1016/j.rbmo.2022.01.011.
215. Stalzer, A. Anti-Mullerian Hormone: A Predictor of Successful Intrauterine Insemination / A. Stalzer, D. Seybold, P. Gantt // *Cureus*. – 2023. – Vol. 15 (10). – P. e47200. – DOI: 10.7759/cureus.47200.
216. Tamura, H. Importance of Melatonin in Assisted Reproductive Technology and Ovarian Aging / H. Tamura, M. Jozaki, M. Tanabe // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21 (3). – P. 1135. – URL: <https://doi.org/10.3390/ijms21031135> (дата обращения: 20.05.2021).
217. Tao, Y. Can peri-ovulatory putrescine supplementation improve egg quality in older infertile women? / Y. Tao, A. Tartia, M. Lawson // *Journal of assisted reproduction and genetics*. – 2019. – Vol. 36. – P. 395-402.
218. The Effect of Age and AMH Level in ART Outcomes in Patients With Reduced Ovarian Reserve: A Retrospective Cross-Study / F. Hosseinzadeh, R. Kabodmehri, M. Mehrafza [et al.] // *J Obstet Gynaecol India*. 2022. – Vol. 72(5). – P. 420-425. doi: 10.1007/s13224-021-01582-y.
219. The potentials of short fragments of human anti-microbial peptide LL-37 as a novel therapeutic modality for diseases / K. Chen, W. Gong, J. Huang [et al.] // *Front Biosci (Landmark Ed)*. – Vol. 26 (11). – P. 1362-1372. – DOI: 10.52586/5029.
220. The economic burden of infertility treatment and distribution of expenditures overtime in France: a self-controlled pre-post study / B. Bourrion, H. Panjo, P. L.

- Bithorel [et al.] // *BMC Health Service Research*. – 2022. – Vol. 22 (1). – P. 512. – DOI: 10.1186/s12913-022-07725-9.
221. Ticconi, C. Clinical consequences of defective decidualization / C. Ticconi, N. Di Simone, L. Campagnolo / *Tissue Cell*. – 2021. – Vol. 72. – P. 101586. – DOI: 10.1016/j.tice.2021.101586.
222. Tsutsui, K. Contribution of GnIH Research to the Progress of Reproductive Neuroendocrinology / K. Tsutsui, T. Ubuka, Y. L. Son // *Frontiers Endocrinology*. – 2015. – Vol. 6. – P. 179. – DOI: 10.3389/fendo.2015.00179.
223. Tuama, M. Q. Correlation of Estrogen Receptor Alpha Serum Level with Gene Polymorphism and Its Effect on Women with Unexplained Infertility, Basra, Iraq / M. Q. Tuama, W. N. Ibrahim, M. Sharief // *Archives of Razi Institute*. – 2023. – Vol. 78 (2). – P. 75-783. – DOI: 10.22092/ARI.2022.359863.2490.
224. Ubuka, T. Gonadotropin-inhibitory hormone neurons interact directly with gonadotropin-releasing hormone-I and -II neurons in European starling brain / T. Ubuka, S. Kim, Y. C. Huang // *Endocrinology*. – 2008. – Vol. 149. – P. 268-278. – DOI: 10.1210/en.2007-09.
225. Van der Reest, J. Mitochondria: Their relevance during oocyte ageing / J. Van der Reest, G. Nardini Cecchino, M. C. Haigis // *Ageing Research Review*. – 2021. – Vol. 70. – P. 101378. – DOI: 10.1016/j.arr.2021.101378.
226. Venneri, M. A. Human genital tracts microbiota: dysbiosis crucial for infertility / M. A. Venneri, E. Franceschini, // *Journal of endocrinological investigation*. – 2022. – Vol. 45 (6). – P. 1151-1160. – DOI: 10.1007/s40618-022-01752-3.
227. Vercellini, P. Association of endometriosis and adenomyosis with pregnancy and infertility / P. Vercellini, P. Viganò, V. Bandini // *Fertility and Sterility*. – 2023. – Vol. 119 (5). – P. 727-740. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2023.03.018.
228. Vitagliano, A. Does maternal age affect assisted reproduction technology success rates after euploid embryo transfer? A systematic review and meta-analysis / A. Vitagliano, A. Paffoni, P. Viganò // *Fertility and Sterility*. – 2023. – Vol. 120 (2). – P. 251-265. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2023.02.036.

229. Von Grothusen, C. Uterine fluid microRNAs are dysregulated in women with recurrent implantation failure / C. von Grothusen, C. Frisendahl, V. Modhukur // *Human Reproduction*. – 2022. – Vol. 37 (4). – P. 734-746. – DOI: 10.1093/humrep/deac019.
230. Wang, L. Oxidative stress in oocyte aging and female reproduction / L. Wang, J. Tang, L. Wang // *Cellular Physiology*. – 2021. – Vol. 236 (12). – P. 7966-7983. – DOI: 10.1002/jcp.30468.
231. Wasielak-Politowska, M. Chromosome Segregation in the Oocyte: What Goes Wrong during Aging / M. Wasielak-Politowska, P. Kordowitzki // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23 (5). – P. 2880. – DOI: 10.3390/ijms23052880.
232. Wu, J. Fertility and Neonatal Outcomes of Freeze-All vs. Fresh Embryo Transfer in Women with Advanced Endometriosis / J. Wu, X. Yang, J. Huang // *Frontiers Endocrinology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 770. – DOI: 10.3389/fendo.2019.00770.
233. Xie, Q. The Role of Kisspeptin in the Control of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis and Reproduction / Q. Xie, Y. Kang, C. Zhang // *Frontiers Endocrinology (Lausanne)*. – 2022. – Vol. 13. – P. 925206. – DOI: 10.3389/fendo.2022.925206.
234. Xu, W. Insights into Modifiable Risk Factors of Infertility: A Mendelian Randomization Study / W. Xu, Y. You, T. Yu // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14 (19). – P. 4042. – DOI: 10.3390/nu14194042.
235. Yan, F. The role of oxidative stress in ovarian aging: a review / F. Yan, Q. Zhao, Y. Li // *Journal of Ovarian Research*. – 2022. – Vol. 15. – P. 100. – URL: <https://doi.org/10.1186/s13048-022-01032-x> (дата обращения: 23.10.22).
236. Yang, C. Melatonin delays ovarian aging in mice by slowing down the exhaustion of ovarian reserve / C. Yang, Q. Liu, Y. Chen // *Commune Biology*. – 2021. – Vol. 4 (1). – P. 534. – DOI: 10.1038/s42003-021-02042-z.
237. Yang, D. Melatonin enhances the developmental potential of immature oocytes from older reproductive-aged women by improving mitochondrial function / D.

- Yang, Y. Mu, J. Wang // *Heliyon*. – 2023. – Vol. 9 (9). – P. e19366. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19366> (дата обращения: 15.09.2023).
238. Yang, G. Relationship between aging population, birth rate and disposable income per capita in the context of COVID-19 / G. Yang, L. Zhang // *PLoS One*. – 2023. – Vol. 18 (8). – P. e0289781. – DOI: 10.1371/journal.pone.0289781.
239. Yang, S. C. CFP1 governs uterine epigenetic landscapes to intervene in progesterone responses for uterine physiology and suppression of endometriosis / S. C. Yang, M. Park, K. H. Hong // *Nature Communication*. – 2023. – Vol. 4 (1). – P. 3220. – DOI: 10.1038/s41467-023-39008-0.
240. Yang, T. Lipid metabolism and endometrial receptivity / T. Yang, J. Zhao, F. Liu // *Human Reproduction Update*. – 2022. – Vol. 28 (6). – P. 858-889. – DOI: 10.1093/humupd/dmac026.
241. Yao, X. Fertility loss: negative effects of environmental toxicants on oogenesis / X. Yao, W. Liu, Y. Xie // *Frontiers Physiology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1219045. – DOI: 10.3389/fphys.2023.1219045.
242. Yao, Z. Mutation analysis of the TUBB8 gene in primary infertile women with oocyte maturation arrest / Z. Yao, J. Zeng, H. Zhu // *Journal of Ovarian Research*. – 2022. – Vol. 15 (38). – P. 1-8. – URL: <https://doi.org/10.1186/s13048-022-00971-9> (дата обращения: 18.09.2023).
243. Yildirim, R. M. The role of mitochondrial dynamics in oocyte and early embryo development / R. M. Yildirim, E. Seli // *Semin Cell Dev Biol*. – 2024. – Vol. 159-160. – P. 52-61. – DOI: 10.1016/j.semcdb.2024.01.007.
244. Yin, R. The effects of unexpected follicular growth and ovulation in artificial cycles: a retrospective cohort study of frozen, single-blastocyst transfer / R. Yin, Y. Dang, Z. Ma // *Fertility and Sterility*. – 2023. – Vol. 119 (6). – P. 985-993. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2023.02.011.
245. Yong, W. Roles of melatonin in the field of reproductive medicine / W. Yong, H. Ma, M. Na // *Biomed Pharmacother*. – 2021. – Vol. 144. – P. 112001. – DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112001.

246. Yu, C. Analyzing the dynamic measurement of growth and development in children born after the transplantation of poor quality blastocyst embryos: a propensity matching study / C. Yu, L. Bai, W. Zhang // *Journal of psychosomatic obstetrics and gynaecology*. – 2023. – Vol. 44 (1). – P. 2284100. – DOI: 10.1080/0167482X.2023.2284100.
247. Yurchuk, T. State of the art in assisted reproductive technologies for patients with advanced maternal age / T. Yurchuk, M. Petrushko, B. Fuller // *Zygote*. – 2023. – Vol. 31 (2). – P. 149-156. – DOI: 10.1017/S0967199422000624 (дата обращения: 25.05.2022).

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Рисунок 2.1 Дизайн исследования	51
Таблица 3.1 Распределение обследуемых пациенток по возрасту.....	64
Таблица 3.2 Возраст менархе (лет)	65
Таблица 3.3 Продолжительность менструального цикла (дни).....	65
Таблица 3.4 Женщины со вторичным бесплодием среди Обследованных (лет).....	66
Таблица 3.5 Причины бесплодия у пациенток исследуемой когорты (абс./%) ...	68
Таблица 3.6 Акушерский анамнез у пациенток с бесплодием (абс./%)	68
Таблица 3.7 Гинекологический анамнез у пациенток с бесплодием (абс./%)	69
Таблица 3.8 Перенесенные операции в анамнезе	70
Рисунок 3.1 Распределение экстрагенитальной патологии у обследуемых (%)	71
Рисунок 3.2 Частота встречаемости инфекционных заболеваний и дисбиотических процессов в анамнезе у обследованных больных, %	72
Таблица 3.9 Основные показатели общего анализа крови ($M \pm SD$)	72
Таблица 3.10 Значения ФСГ в когорте (2-3 день цикла), мМЕ/мл	73
Таблица 3.11 Содержание ЛГ у обследуемых пациенток (2-3 день цикла), мМЕ/мл.....	73
Таблица 3.12 Показатели пролактина у пациенток (2-3 день цикла), мМЕ/мл	74
Таблица 3.13 Концентрации эстрадиола (E2) в крови пациенток (2-3 день цикла), пмоль/мл	74
Таблица 3.14 Концентрация прогестерона в крови пациенток, нмоль/л	75
Таблица 3.15 Уровень АМГ в крови пациенток, нг/мл	75
Рисунок 3.3 Частота обнаружения спаечного процесса на УЗИ, %.....	77
Рисунок 3.4 Концентрация (баллы) эстрогеновых (ER) и прогестероновых	

(PR) рецепторов в эндометрии	78
Таблица 3.16 Концентрация (в баллах) эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов в железистом эпителии и стромальных клетках эндометрия	79
Таблица 3.17 Маркеры бесплодия в эндометрии (количество клеток в поле зрения, экспрессирующих данный маркер).....	79
Таблица 3.18 Методы прегравидарной подготовки	81
Рисунок 3.5 Распределение пациенток, получавших длинный и короткий протоколы стимуляции (указано количество пациенток).....	82
Рисунок 3.6 Количество ооцитов, полученных в цикле стимуляции	83
Рисунок 3.7 Количество зрелых, незрелых и дегенеративных ооцитов	84
Таблица 3.20 Количество полученных ооцитов в группах пациенток	84
Рисунок 3.8 Количество ооцитов на 1 женщину	85
Рисунок 3.9 Отношение числа отбракованных на 3 сутки эмбрионов к общему количеству оплодотворенных яйцеклеток, %	86
Рисунок 3.10 Количество оставленных для дальнейшего культивирования эмбрионов после ревизии на 3-и сутки, %.....	87
Рисунок 3.11 Отношение числа эмбрионов хорошего качества по отношению к числу оплодотворенных ооцитов	88
Рисунок 3.12 Распределение пациенток с клинической (по данным УЗИ) беременностью (на перенос)	90
Таблица 3.21 Различия по частоте наступления беременности	90
Рисунок 3.13. Частота живорождения (от начатого цикла), %	91
Таблица 3.22 Содержание гормонов в двух возрастных группах в зависимости от исходов ЭКО	92
Таблица 3.23 Параметры менструально-овариального цикла в зависимости от исхода ВРТ	93
Таблица 3.24 Наличие проведения прегравидарной подготовки в зависимости от исхода ВРТ	94
Таблица 4.1. Стандартизированные канонические	

коэффициенты дискриминантной функции информативных показателей	101
Рисунок 4.1 Дендрограмма иерархической классификации пациенток позднего репродуктивного возраста (примечание: по оси абсцисс – объединяемые объекты, по оси ординат – близость кластеров)	102
Таблица 4.2 Возрастное распределение обследованных пациенток (лет).....	103
Таблица 4.3 Продолжительность бесплодия (лет)	104
Таблица 4.4 Значения возраста менархе и уровень значимости по критерию Манна-Уитни (лет)	104
Таблица 4.5 Продолжительность менструального цикла в когорте (уровень значимости по критерию Манна-Уитни) (дни)	105
Рисунок 4.2 Распределение соматической патологии по группам и подгруппам, в % от численности группы (ДДМЖ - дисгормональная дисплазия молочных желез, ПЩЖ – патология щитовидной железы, ПП – патология почек, ПЖКТ – патология желудочно-кишечного тракта, НЦД – нейроциркуляторная дистония).....	105
Таблица 4.6 Параметры общего анализа крови ($M \pm SD$).....	106
Таблица 4.7 Параметры биохимического анализа крови ($M \pm SD$).....	107
Таблица 4.8 Содержание ФСГ, мМЕ/мл, в сыворотке крови пациенток и уровень значимости p (парный Т-критерий для независимых выборок)	108
Таблица 4.9 Концентрация ЛГ, мМЕ/л в сыворотке крови	109
Таблица 4.10 Содержание пролактина, мМЕ/л, в сыворотке крови пациенток	109
Таблица 4.11 Концентрация E2, пг/мл, (эстрадиола) в сыворотке крови.....	110
Таблица 4.12 Концентрация прогестерона, нмоль/л, в сыворотке крови	111
Таблица 4.13 Концентрация АМГ, нг/мл, в сыворотке крови пациенток.....	112
Таблица 4.14 Данные ультразвукового исследования женских половых органов обследуемых пациенток (количество антральных фолликулов	

(КАФ))	113
Таблица 4.15 Данные ультразвукового исследования женских половых органов обследуемых пациенток (толщина эндометрия, мм)	114
Таблица 4.16 Параметры индуцированного цикла у пациенток	115
Таблица 4.17 Особенности оогенеза и эмбриогенеза	116
Таблица 4.18 Исходы программ ЭКО у пациенток исследуемых групп.....	117
Таблица 4.19 Уровень мелатонина в периферической крови, (пг/мл)	118
Таблица 4.20 Уровень мелатонина в фолликулярной жидкости, (пг/мл)	119
Рисунок 4.3 Линейная корреляция между уровнями мелатонина периферической крови и фолликулярной жидкости у пациенток 1 группы	119
Рисунок 4.4 Линейная корреляция между возрастом пациенток 1 группы и уровнями мелатонина периферической крови и фолликулярной жидкости	120
Таблица 4.21 Коррелятивные взаимосвязи между мелатонином и половыми гормонами в когорте пациенток.....	120
Таблица 4.22 Уровень SOD в фолликулярной жидкости, (мМЕ/мг).....	122
Таблица 4.23 Уровень MDA в фолликулярной жидкости, (μM)	123
Таблица 4.24 – Коэффициент SOD/MDA в фолликулярной жидкости (y.e.).....	123
Рисунок 4.5 Линейная корреляция между возрастом пациенток (1 группа) и коэффициентом SOD/MDA (y.e.)	124
Рисунок 4.6 Линейная корреляция между уровнем мелатонина периферической крови и фолликулярной жидкости пациенток (1 группа) и коэффициентом SOD/MDA (y.e.)	125

Таблица 4.25 Показатели внутриматочной гемодинамики по данным доплерометрического исследования в средней секреторной фазе (индекс резистентности маточных артерий (IR)).....	126
Таблица 4.26 Показатели внутриматочной гемодинамики по данным доплерометрического исследования в средней секреторной фазе (пульсационный индекс (PI) маточных артерий).....	127
Таблица 4.27 Частота выявления микроорганизмов в эндометрии, (абс/%).....	128
Таблица 4.28 Признаки статистической значимости отличий в наличии микрофлоры в эндометрии	129
Таблица 4.29 Уровень LL37 (кателицидин) в цервикальном секрете, пг/мл	131
Рисунок 4.7 Уровень LL37 цервикального секрета, пг/мл	132
Таблица 4.30 Иммуногистохимические критерии хронического эндометрита: CD56+, CD138+, HLA-DR.....	133
Таблица 4.31 Иммуногистохимическая характеристика рецепторного статуса эндометрия (ER и PR).....	135
Таблица 4.32 Иммуногистохимическая характеристика рецепторного статуса эндометрия (LIF)	136
Таблица 4.33 ПВИ (IL6/ IL10) в цервикальном секрете (пг/мл).....	138
Таблица 4.34 Уровень VEGF-A в цервикальном секрете, (пг/мл)	139
Таблица 4.35 Уровень TGFβ1 в цервикальном секрете, (пг/мл).....	139
Таблица 4.36 Индекс TGFβ1/VEGF-A в цервикальном секрете (у.е.)	140
Таблица 4.37 Уровень LIF в цервикальном секрете (пг/мл).....	141
Таблица 5.1 Динамика частоты выявления микроорганизмов в эндометрии, (абс/%) у пациенток подгруппы 1В после	

прегравидарной подготовки	147
Таблица 5.2 Динамика ПВИ и кателицидина в цервикальной слизи у пациенток подгруппы 1В после прегравидарной подготовки	148
Таблица 5.3 Динамика уровня гонадотропных и половых гормонов в периферической крови пациенток 1В-подгруппы после проведенной прегравидарной подготовки	148
Таблица 5.4 Динамика уровня мелатонина у пациенток подгруппы 1В после прегравидарной подготовки	149
Таблица 5.5 Динамика уровня анти- и прооксидантных ферментов в фолликулярной жидкости после прегравидарной подготовки.....	149
Таблица 5.6 Динамика индекса TGF β 1/VEGF-A и LIF в цервикальной слизи у пациенток 1В-подгруппы после прегравидарной подготовки	150
Таблица 5.7 Динамика параметров ультразвукового исследования женских половых органов пациенток 1В-подгруппы после прегравидарной подготовки	150
Таблица 5.8 Параметры индуцированного цикла у пациенток подгруппы 1В после проведения прегравидарной подготовки.....	151
Таблица 5.9 Особенности оогенеза и эмбриогенеза у пациенток подгруппы 1В после проведения прегравидарной подготовки	152
Таблица 5.10 Исходы программ ЭКО у пациенток подгруппы 1В после проведения прегравидарной подготовки	153
Таблица 5.11 Динамика ПВИ и кателицидина в цервикальной слизи после прегравидарной подготовки	154
Таблица 5.12 Динамика индекса TGF β 1/VEGF-A и LIF в цервикальной слизи после прегравидарной подготовки	155
Таблица 5.13 Динамика уровня мелатонина у пациенток подгруппы 1С после прегравидарной подготовки	155
Таблица 5.14 Динамика уровня гонадотропных и половых гормонов в периферической крови после прегравидарной подготовки	156

Таблица 5.15 Динамика уровня анти- и прооксидантных ферментов в фолликулярной жидкости после прегравидарной подготовки.....	158
Таблица 5.16 Динамика параметров ультразвукового исследования женских половых органов после прегравидарной подготовки	159
Таблица 5.17 Динамика LIF в цервикальной слизи после прегравидарной подготовки.....	159
Таблица 5.18 Параметры индуцированного у пациенток 1С-подгруппы после проведения прегравидарной подготовки.....	160
Таблица 5.19 Особенности оогенеза и эмбриогенеза у пациенток 1С-подгруппы после проведения прегравидарной подготовки	161
Таблица 5.20 Исходы программ ЭКО у пациенток 1С1-подгруппы после проведения прегравидарной подготовки	163